



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS DE DOCTOR EN AGRONOMIA**

**INFLUENCIA DEL DESECADO QUÍMICO DEL CULTIVO SOBRE EL  
RENDIMIENTO Y CALIDAD DE SEMILLAS HÍBRIDAS DE GIRASOL**

Ing. Agr. Mg. Cyntia Lorena Szemruch

Director de Tesis: Dr. Miguel Angel Cantamutto

Co- Directora: Dra. Deborah Paola Rondanini

**BAHIA BLANCA**

**ARGENTINA**

2017

*A mi madre, Silvia le dedico todo mi esfuerzo con infinito amor*

*A Ana y Facundo, las razones para seguir creciendo*

*A Juan Manuel, mi compañero de vida*

*Al recuerdo de mi padre, Mario*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, por brindarme su amor, infinito apoyo, ayudarme a realizar todos mis sueños y ser mi guía y soporte en cada momento.

A Juan Manuel mi amor, por su apoyo incondicional, por compartir la vida conmigo y concretar mi sueño de ser feliz.

A mi Director, el Dr. Miguel A. Cantamutto, por haber depositado su confianza en mí para realizar este proyecto y sus excelentes consideraciones. Por ser un ejemplo de trayectoria y conocimiento, del que aprendí y seguiré aprendiendo.

A mi amiga, compañera, jefa y Co-directora, la Dra. Deborah Rondanini, por hacer posible este proyecto con invalorable predisposición e incondicional apoyo. Por acompañarme en el camino con gran generosidad y alentarme a seguir adelante. Por su admirable coraje y perseverancia, por ser un ejemplo como profesional y como persona.

Al Ing. Agr. (MSc) Santiago Renteria, por haber permitido la realización de los experimentos. Por facilitarme, generosa y desinteresadamente, todos los recursos para la ejecución de los mismos. Por su enorme e inmejorable calidad profesional y humana. Por darme la posibilidad de conocer a su grupo de trabajo, César Sarria y Gustavo Medei, personas sin las cuales no hubiera sido posible realizar esta tesis. A ellos por su confianza y excelente trato, por acompañarme en cada detalle y por su extraordinario trabajo.

A mis amigos y colaboradores, Ing. Agr. Fabiana Moreira, Ing. Agr. Federico García y Gladys Corbalán, por los cientos de horas y miles de semillas compartidas. Porque su trabajo e incansable dedicación fueron el motor que impulsó la realización de este proyecto.

A mis compañeras del Laboratorio de Semillas de la FCA-UNLZ, Dra. Liliana Ferrari, Ing. Agr. (MSc) María Elena Olivera e Ing. Agr. Estela Postulka. Por proporcionarme las facilidades para realizar las pruebas de laboratorio y por su apoyo incondicional.

A la Ing. Agr. Carolina Mazo, Matías Aguirre y Leandro Marco, por su colaboración en la realización de los ensayos a campo y laboratorio.

A la Ing. Agr. (Msc) Anita Mantese por su asistencia y recomendaciones en los análisis microscópicos.

A mi querida Profesora Olga Del Longo, por compartir su pasión por las semillas, por ser un ángel que me guió y me guía.

Al Departamento de Agronomía de la UNS y la Secretaría de Posgrado, por el cálido recibimiento y la posibilidad de acceder a este título.

A la FCA- UNLZ por otorgarme las posibilidades para avanzar en mi carrera profesional.

## **PREFACIO**

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre el 17 de Septiembre de 2013 y el 3 Octubre de 2016, bajo la dirección del Dr. Miguel A. Cantamutto y la Co-dirección de la Dra. Deborah P. Rondanini (FCA-UNLZ, FAUBA y CONICET).

Cyntia Lorena Szemruch



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el .../.../....., mereciendo la calificación de.....(.....)

## **INDICE GENERAL**

INDICE DE FIGURAS .....	XI
INDICE DE TABLAS .....	XVI
ACRÓNIMOS .....	XIX
GLOSARIO .....	XXI
RESUMEN .....	XXIII
ABSTRACT.....	XXV

### **CAPITULO I**

#### **INTRODUCCIÓN GENERAL**

1.1 Tecnología de desecado, ventajas de su utilización en el cultivo de girasol .....	2
1.2 Definición de calidad fisiológica de semillas .....	3
1.3 Morfología, crecimiento y maduración de las semillas de girasol .....	4
1.5 Objetivo General.....	9
1.6 Estructura de la tesis .....	9

### **CAPITULO II**

#### **DINAMICA DE LA DESHIDRATACIÓN DE SEMILLAS, RECEPTÁCULOS Y TALLOS INDUCIDA POR TRES DESECANTES QUÍMICOS APLICADOS LUEGO DE LA MADIREZ FISIOLÓGICA DE GIRASOL**

2.1 INTRODUCCIÓN .....	14
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
2.2.1 Sitio, material vegetal y condiciones de experimentación.....	17
2.2.2 Tratamientos de desecado .....	19
2.2.3 Variables medidas .....	20

2.2.4 Diseño experimental y Análisis estadístico .....	21
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
2.3.1 Pérdida de verdor e indicadores visuales .....	21
2.3.2 Dinámica de secado de granos/semillas, receptáculos y tallos.....	26
2.3.2.1 Dinámica de secado de híbridos comerciales (Exp. 3 y 4): .....	26
2.3.2.2 Dinámica de secado de la línea parental femenina (Exp. 1 y 2):.....	29
2.3.2.3 Relación entre la humedad de receptáculos/tallos vs. granos/semillas.....	33
2.4 CONCLUSIONES .....	40

## CAPITULO II

### EFFECTOS DEL DESECADO QUÍMICO SOBRE EL RENDIMIENTO, EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE ACEITE DE LAS SEMILLAS HIBRIDAS DE GIRASOL

3.1 INTRODUCCIÓN .....	42
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
3.2.1 Sitio, material vegetal y condiciones de experimentación.....	45
3.2.2 Tratamientos de desecado.....	47
3.2.3 Variables medidas.....	49
3.2.4 Diseño experimental y Análisis estadístico .....	49
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
3.3.1 Rendimiento y componentes.....	50
3.3.2 Porcentaje de embrión, contenido y composición del aceite .....	53
3.4 CONCLUSIONES .....	56

## CAPITULO IV

### IMPACTO DE LA DESECACIÓN QUÍMICA SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA INICIAL DE SEMILLAS DE GIRASOL

4.1 INTRODUCCIÓN .....	58
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	62
4.2.1 Material vegetal .....	62
4.2.2 Variables medidas .....	62
4.2.3 Diseño experimental y análisis estadístico .....	66
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	66
4.3.1 Efectos del desecado en la dormición .....	66
4.3.2 Efectos del desecado en la germinación y el vigor .....	76
4.4.2.1 Germinación .....	76
4.3.2.2 Vigor .....	79
4.3.2.3 Efectos del ambiente en la calidad de semillas .....	82
4.4 CONCLUSIONES .....	87

## CAPITULO V

### INFLUENCIA DE LA DESECACIÓN QUÍMICA SOBRE LA CALIDAD DE SEMILLAS DE GIRASOL DURANTE EL ALMACENAMIENTO

5.1 INTRODUCCIÓN .....	89
5.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	93
5.2.1 Material vegetal y condiciones de almacenamiento .....	93
5.2.2 Variables medidas .....	94
5.2.3 Análisis estadístico y diseño experimental .....	95
5.3 RESULTADOS Y DISCUSION .....	96
5.3.1 Efectos del desecante en la calidad de las semillas durante el almacenamiento .....	96
5.3.1.1 Germinación .....	96
5.3.1.2 Vigor .....	100

5.3.2 Efectos de las condiciones de almacenamiento .....	104
5.3.3 Relación entre el deterioro y la composición química de las semillas .....	113
5.4 CONCLUSIONES .....	123

## CAPITULO VI

### VALIDACIÓN DEL VIGOR A CAMPO EN SEMILLAS HÍBRIDAS DE GIRASOL OBTENIDAS LUEGO DEL DESECADO QUÍMICO

6.1 INTRODUCCIÓN .....	125
6.1.1 Conductividad Eléctrica.....	126
6.1.1.1 Conductividad Eléctrica en semillas de girasol .....	126
6.1.1.2 Categorías de vigor en base al test de Conductividad Eléctrica .....	127
6.1.2 Test de Tetrazolio .....	128
6.1.3 Emergencia a campo de las semillas de girasol cosechadas luego del desecado químico.....	129
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	130
6.2.1 Material vegetal, condiciones de experimentación y tratamientos .....	130
6.2.2 Variables medidas.....	131
6.2.3 Análisis estadístico y diseño experimental .....	133
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	133
6.3.1 Sensibilidad de los test de vigor .....	133
6.3.2 Relación entre la Conductividad Eléctrica y la emergencia a campo de semillas desecadas.....	137
6.4 CONCLUSIONES .....	143

## CAPITULO VII

### VISIÓN INTEGRAL DE LA LABOR REALIZADA

7.1 Aspectos no resueltos y perspectivas futuras de investigación.....	145
7.2 Resumen y modelización.....	150
7.3 Conclusión general de la tesis.....	152
REFERENCIAS.....	153
ANEXO .....	172

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1. Fotografía de la cipsela de girasol (a) y sus partes constitutivas (pericarpio, cubierta seminal y semilla propiamente dicha). Detalle de la cubierta seminal (b).....	5
Figura 1.2. Diagrama conceptual integrador de la evolución del peso seco y la humedad (a) germinación y vigor (b) de las semillas de girasol a partir de la fecundación. Fuente: elaborado en base a Delouche y Cadwel (1960) y Dornbos Jr. (1995).....	7
Figura 2.1. Evolución del Verdor (SPAD) del estrato superior de hojas de girasol bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 3 “aplicación con alta humedad” (a, c, e) y experimento 4 “aplicación con baja humedad” (b, d, f) para los híbridos comerciales (P20, Olisun 4 y Syn 3820). Las barras muestran el error estándar. ....	22
Figura 2.2. Intensidad de manchas necróticas en receptáculos y tallos bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d) a los 6 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1. ....	24
Figura 2.3. Intensidad de manchas necróticas en receptáculos y bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d, e) a los 20 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1.....	25
Figura 2.4. Intensidad de manchas necróticas en capítulos y tallos bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d, e) a los 9 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 2.....	25
Figura 2.5. Evolución de la humedad de los granos (a, d, g), receptáculos (b, e, h) y tallos (c, f, i) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 3 (aplicación con “alta humedad” = 31%) para los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar. ....	27
Figura 2.6. Evolución de la humedad de los granos (a, d, g), receptáculos (b, e, h) y tallos (c, f, i) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 4 (aplicación con “baja humedad” = 15%) en los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar. ....	28
Figura 2.7. Evolución de la humedad de las semillas (a, b), receptáculos (c, d) y tallos (e, f) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Venado Tuerto, experimentos 1 (a, c, e) y 2 (b, d, f) para la línea parental femenina IL01. Las barras muestran el error estándar. ....	30

- Figura 2.8. Relación entre la humedad de los receptáculos (a) y tallos (b) y la humedad de las semillas para los tratamientos de desecado con PAR (líneas grises) y el Control (líneas negras) en Venado Tuerto, experimentos 1 y 2 para la línea parental femenina IL01. Las barras muestran el error estándar.....33
- Figura 2.9. Relación entre la humedad de los receptáculos (a, c, e) y tallos (b, d, f) y la humedad de los granos para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros) en Buenos Aires, experimentos 3 (a, c, e) y 4 (b, d, f) para los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.....35
- Figura 2.10. Relación entre la humedad de los receptáculos (a) y tallos (b) y la humedad de los granos/semillas con desecantes (símbolos blancos) y el Control (símbolos negros) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1, 2, 3 y 4 para la línea parental femenina IL01 y los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.....36
- Figura 2.11. Evolución de las precipitaciones (barras grises) y la humedad relativa (símbolos negros) a partir de los días desde la aplicación (DDA) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d). .....39
- Figura 3.1. Temperaturas máximas (línea negra), mínimas (línea gris) y precipitaciones (barras) a partir de la madurez fisiológica en Venado Tuerto, experimentos 5 (a), 6 (b) y 7 (c). Las flechas indican los momentos de aplicación y cosecha del tratamiento con PAR, cosecha del tratamiento de CM y del Control. Abreviaturas: aplicación (Aplic).....48
- Figura 3.2 Duración de ciclo en días (d) de los períodos de siembra- R5 (barras blancas) y R5-cosecha (barras negras) en 5 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con Paraquat (PAR) y Corte Manual (CM) aplicados alrededor del 30% de humedad de semillas y las plantas control (C) en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7. Las líneas negras horizontales indican el momento de MF (R9).....51
- Figura 4.1. Fotografías de la estructura anatómica de las semillas de girasol (secciones transversales) de los genotipos G1 (a), G2 (b) y G3 (c) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 45  $\mu\text{m}$ . Abreviaturas: cubierta seminal (Cs); estrato de células endospermáticas (ece).....69
- Figura 4.2. Fotografías de las secciones transversales del pericarpio de los genotipos G1 (a), G2 (b) y G3 (c) para los tratamientos de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 45  $\mu\text{m}$ . Abreviaturas: epidermis más hipodermis (epi+hipo); esclerénquima (escl).....70
- Figura 4.3. Análisis de Componentes principales (Biplot) entre la dormición (%) y las características anatómicas del pericarpio en los genotipos G1 a G3 para los tratamientos de desecado con PAR y Control (C) en Venado Tuerto, experimento 5. Abreviaturas: pc = pared celular; escl = esclerénquima; epi+hipo = (epidermis + hipodermis). .....71
- Figura 4.4. Fotografías de las secciones transversales de la cubierta seminal propiamente dicha (Cspd) o estrato de células muertas y del estrato de células endospermáticas (ece) de los genotipos

G1 (a), G2 (b) y G3 (c) para los tratamientos de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 20  $\mu\text{m}$ . .....73

Figura 4.5. Características anatómicas de la cubierta seminal y del endosperma de los genotipos G1, G2 y G3 para los tratamientos de desecado en Venado Tuerto, experimento 5. Detalle de las semillas pertenecientes al Control de G1 incluyendo un estrato de células endospermáticas (ece) adyacentes al embrión y la cubierta seminal propiamente dicha conformada por el estrato de células muertas (ecm) y tejido vascular (tv) adyacentes al pericarpio. Barras: 20  $\mu\text{m}$ , (a). Detalle del estrato de células endospermáticas en tratamientos de desecado PAR y Control con diferentes espesores de la pared celular interna (pci) y de la pared celular externa (pce). Barras: 7  $\mu\text{m}$ , (b). .....74

Figura 4.6. Análisis de Componentes principales (Biplot) entre la dormición (%) y las características anatómicas de la capa de células endospermáticas en los genotipos G1 a G3 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control (C) en Venado Tuerto, experimento 5. Abreviaturas: pci= pared celular interna; pce=pared celular externa. ....75

Figura 4.7. Días entre madurez fisiológica-cosecha (R9-C) (a), días con temperaturas > a 30 °C (b) ( $T^{\circ}>30^{\circ}$ ), precipitaciones (mm) (c) y humedad relativa (%) (d) en el mismo período, para 3 genotipos (IL02, IL00 x IL01 e IL10) en Venado Tuerto, experimentos 5 al 7 bajo los tratamientos de PAR (barras grises) y control (barras negras). .....83

Figura 5.1. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e) y Pre-enfriado (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa en dicho momento. ....97

Figura 5.2. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e) y Pre-enfriado (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa en dicho momento. ....98

Figura 5.3. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e, g, i) y Pre-enfriado (b, d, f, h, j) para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros) de 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa en dicho momento. ....100

Figura 5.4. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, c, e) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (b, d, f) para los tratamientos de desecado

con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras muestran el error estándar. .... 101

Figura 5.5. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, c, e) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos blancos), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6. Las barras muestran el error estándar. .... 102

Figura 5.6. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante el test de Conductividad Eléctrica para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos blancos) y el Control (símbolos negros) de 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7. Las barras muestran el error estándar. .... 103

Figura 5.7. Evolución de la germinación sin pericarpio y sin cubierta seminal (SpSc) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25 °C (símbolos negros) Las líneas horizontales muestran el límite mínimo de comercialización para girasol (85%). Las barras muestran el error estándar. .... 105

Figura 5.8. Evolución de la germinación (Pre-enfriado-ISTA) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25 °C (símbolos negros). Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes, debido a que no se eliminó la dormición en forma completa para dicho momento. Las líneas horizontales muestran el límite mínimo de comercialización para girasol (85%). Las barras muestran el error estándar. .... 106

Figura 5.9. Evolución del vigor (Tetrazolio-TZ Semillas de vigor alto) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25°C (símbolos negros). Las barras muestran el error estándar. .... 108

Figura 5.10. Evolución del vigor (Conductividad Eléctrica) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25 °C (símbolos negros). Las barras muestran el error estándar. .... 109

Figura 5.11. Evolución del vigor (Conductividad Eléctrica) durante el almacenamiento en galpón a 25 °C (a, c, e) y cámara a 10 °C (b, d, f) para el tratamiento con PAR (círculos grises) y el Control (triángulos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto. Los valores representan el promedio de los experimentos 5, 6 y 7. Las barras muestran el error estándar. .... 111

Figura 5.12. Tasa de deterioro (Porcentaje de Conductividad Eléctrica/mes) relativa al valor de vigor inicial (= 0%) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) del genotipo G1 (a, b), G2 (c, d) y G3 (e, f), durante el almacenamiento en galpón a 25°C (a, c, e) y cámara a 10°C (b, d, e), en Venado Tuerto. Los valores representan el promedio de los experimentos 5, 6 y 7. .... 112

Figura 5.13. Relaciones entre la Germinación SpSc (a, c) y la Conductividad Eléctrica (b, d) con respecto al contenido de aceite (a, b) y oleico (c, d) en los genotipos G1 a G5 en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7. Los valores representan el promedio para los tratamientos de desecado... 119

Figura 5.14. Relación entre la Conductividad Eléctrica y la Germinación SpSc en los genotipos G1 a G5 en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7 (n= 336)..... 122

Figura 6.1. Categorías de vigor para semillas de girasol (líneas punteadas horizontales) en base a la relación entre la germinación y la Conductividad Eléctrica (Szemruch et al., 2015). Modelo ajustado para un n= 420..... 128

Figura 6.2. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento. Los valores representan el promedio para los tratamientos de desecado. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch et al., 2015) y en los paneles c y d, el 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio. .... 134

Figura 6.3. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) en Venado Tuerto, experimentos (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros). Los valores representan el promedio para los genotipos G1 a G3. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch et al., 2015) y en los paneles c y d, el 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio. .... 135

Figura 6.4. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos, línea punteada) y galpón a 25°C (símbolos negros, línea continua). Los valores representan el promedio para los genotipos (G1 a G3) y tratamientos de desecado. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch et al., 2015) y en los paneles c y d al 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio. .... 136

Figura 6.8. Relación entre la velocidad de emergencia a campo en Plántulas/día (a), Plántulas/°Cd (b), °Cd/plántula (c) y el vigor en laboratorio (Conductividad eléctrica) a los 6 (símbolos blancos) y 19 (símbolos negros) meses de almacenamiento, en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7..... 139

Figura 6.9. Relación entre la velocidad de emergencia a campo en Plántulas/día (a, b), Plántulas/°Cd (c, d), °Cd/plántula (e, f) y el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica) para el tratamiento de desecado con PAR (triángulos) y el Control (cruces) a los 6 (a, c, e) y 19 (b, d, f) meses de almacenamiento en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7..... 141

Figura 7.1. Diagrama conceptual integrador de la respuesta de las semillas de girasol al desecado con PAR (líneas y triángulos grises) y el control (líneas y triángulos negros).

Abreviaturas: Madurez Fisiológica (MF), PAR. La longitud de los triángulos indica el efecto del desecante (menor longitud, menor efecto).....151

## INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Porcentaje de tejido necrosado luego del desecado con PAR, Saflufenacil, Carfentrazone y Control a los 6 y 20 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1. Valores de acuerdo a la escala 0 = necrosis no visible a 100 = 100 % del tejido del receptáculo y tallo necrosados.....2

Tabla 2.2 Coeficientes de correlación de Pearson entre la humedad de los receptáculos y tallos y la humedad relativa del aire en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 a 4. Los asteriscos indican correlaciones significativas ( $P < 0,05$ ),  $n = 46$ .....38

Tabla 3.1. Estructura genética y características de las semillas híbridas utilizadas en los experimentos del capítulo III. ....46

Tabla 3.2. Rendimiento, número de semillas ( $N^{\circ}$  de semillas/m<sup>2</sup>) y peso de 1000 semillas (PMS) de líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6. ....52

Tabla 3.3. Rendimiento, número de semillas ( $N^{\circ}$  de semillas/m<sup>2</sup>) y peso de 1000 semillas (PMS) de 5 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control en Venado Tuerto, experimento 7.....53

Tabla 3.4. Porcentaje de embrión, contenido de aceite y de ácido oleico de 3 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6. ....55

Tabla 3.5. Porcentaje de embrión, contenido de aceite y de ácido oleico de 5 líneas parentales femeninas de girasol para el tratamiento de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 7.....56

Tabla 4.1. Dormición y viabilidad para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.....67

Tabla 4.2. Dormición y viabilidad para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7. ....68

un 35% con respecto al control (Tabla 4.3; Figura 4.5).

Tabla 4.3. Estructura del estrato de células endospermáticas de los genotipos G1, G2 y G3 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Venado Tuerto, experimento 5. ....72

Tabla 4.4. Germinación luego de la remoción del pericarpio (Sp) y remoción del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) para los tratamientos de desecado con PAR, CM y el Control, de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.....77

Tabla 4.5. Germinación luego de la remoción del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7..78	78
Tabla 4.6. Vigor de semillas de girasol medido a través del test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio (TZ-semillas de vigor alto) para tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.....80	80
Tabla 4.7. Vigor de semillas de girasol medido a través del test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio (TZ-semillas de vigor alto) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7. ....81	81
Tabla 4.8. Germinación y Conductividad Eléctrica de los genotipos IL02 e IL00 x IL01 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5.....84	84
Tabla 4.9. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre la calidad fisiológica (Germinación SpSc y Conductividad Eléctrica), los días entre MF-cosecha y las variables meteorológicas para el mismo período (precipitaciones, humedad relativa, radiación y temperatura media) para 2 genotipos (IL02 e IL00 x IL01) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5, n = 32. ....85	85
Tabla 4.10. Longitud (días), precipitaciones, humedad relativa, radiación, temperatura media (T) y cantidad de días con T>30°C para el período MF-cosecha (R9-C) en 2 genotipos (IL02 e IL00 x IL01) y el tratamiento con PAR en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5. ....86	86
Tabla 5.1. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5..... 113	113
Tabla 5.2. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6.....114	114
Tabla 5.3. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 7..... 114	114
Tabla 5.4. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5 .....115	115
Tabla 5.5. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6. ....116	116
Tabla 5.6. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 7. ....117	117
Tabla 5.7. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc y la Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5 (p< 0.05)..... 117	117

Tabla 5.8. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc -Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6 ( $p < 0.05$ ). ..... 118

Tabla 5.9. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc y Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7 ( $p < 0.05$ ). ..... 118

Tabla 6.1. Coeficientes de correlación de Pearson entre el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica) y la emergencia a campo (porcentaje de emergencia, altura en V2, altura en V4 y velocidad de emergencia en Plántulas/día. Plántulas/°Cd, °Cd/plántula) a los 6 y 19 meses de almacenamiento para los genotipos G1 a G5 en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7 ( $p < 0.05$ ). ..... 138

## ANEXO

Tabla 1. Germinación luego de la aplicación de tratamientos para romper dormición: Pre-enfriado, Pre-humedecimiento y Ethrel para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control, de los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7. .... 175

Tabla 2. Estructura del pericarpio de los genotipos (G1 a G3) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Venado Tuerto, experimento 5 ..... 176

Tabla 3. Vigor de semillas de girasol medido a través de la aplicación de diferentes test: envejecimiento acelerado, peso seco de plántulas (PSPL) e índice IVE (Pre-humedecimiento frío) para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6. .... 177

Figura 1. Figura 1. Modelo de desarrollo de girasol a partir de R1, en días (Days) y grados día (GDD; °Cd), propuesto por Lindström y Hernández (2015) comparando el período EF5 a EF8 (según la escala de Marc y Palmer, 1981) y el período de R1 a R9 (según la escala de Schneiter y Miller 1981). Abreviaturas: NFA: number of full achenes (número de aquenios llenos). PNA: potential number of achenes (número potencial de aquenios). PPS, pericarp potential size (tamaño potencial del pericarpio); PFS, pericarp final size (tamaño final del pericarpio); MPM, maximum pericarp mass (peso máximo del pericarpio); EPM, embryo potential mass (peso potencial del embrión); MEM, maximum embryo mass (peso máximo del embrión). ..... 178

**ACRÓNIMOS**

°C: grados centígrados

CE: conductividad eléctrica

CM: corte manual

cm<sup>3</sup>: centímetros cúbicos

Cspd: Cubierta seminal propiamente dicha

DDA: días desde la aplicación

h: hora

ha: hectárea

Exp.: experimento

epi+hypo: epidermis más hipodermis

escl: esclerénquima

ece: estrato de células endospermáticas

ecm: estrato de células muertas

FAA: solución de formaldehído, alcohol y ácido acético)

G: genotipo

g: gramo

kg: kilogramo

l: litro

MF : madurez fisiológica

m: metro

N°: número

PAR: Paraquat

pc: pared celular

pce: pared celular externa

pci pared celular interna

p/v: relación peso/volumen

Res: resolución

Sp: sin pericarpio

SpSc: sin pericarpio, sin cubierta seminal

tv: tejido vascular

t: toneladas

T: tratamiento de desecado

T<sup>°</sup>>30<sup>°</sup>: temperaturas mayores a 30<sup>°</sup>C

um: micrones

v/v: relación volumen en volumen

## GLOSARIO

Androestéril: material genético que no produce polen, obtenido a través de sucesivas generaciones de autofecundación y empleado para la producción de híbridos.

Calidad Fisiológica: capacidad para expresar sus funciones vitales en diferentes condiciones ambientales, siendo sus atributos más representativos la germinación y el vigor

Canopeo: disposición espacial del conjunto de hojas pertenecientes a un cultivo.

Carry over: volumen de semillas almacenado en cámara fría por las empresas semilleras que no ha sido vendido en la misma campaña de su producción.

Cipsela: fruto perteneciente a la familia de las Asteráceas, definido como un aquenio de ovario ínfero.

Cubierta seminal: tegumento que rodea a las semillas, proveniente de la testa y tegmen del óvulo.

Deterioro controlado: test de vigor en el cual las semillas son sometidas a elevadas temperaturas (no óptimas) y humedad relativa (100 %). Requiere previa estabilización de la humedad de las semillas.

Envejecimiento acelerado: test de vigor en el cual las semillas son sometidas a elevadas temperaturas (no óptimas) y elevada humedad relativa (100 %). No requiere estabilización previa de la humedad de las semillas.

Fotosistema: complejo proteico situado en membranas de organismos autótrofos donde se agrupan los pigmentos fotosintéticos.

Germinación: atributo fisiológico que indica la capacidad de las semillas de germinar en condiciones óptimas para la especie.

Granos: fruto de cultivos de cereales y oleaginosas destinado al consumo directo o procesado.

Maduración: período comprendido entre la madurez fisiológica y la cosecha de los frutos.

Plántula normal: aquella cuyo aspecto de sus estructuras esenciales (radícula, hipocótle, yema apical y cotiledones) indican si es capaz de desarrollarse satisfactoriamente en una planta, en condiciones de campo.

Semillas: fruto u otra estructura vegetal destinada a la siembra.

Semillas frescas: aquellas que no germinan al decimo día desde la siembra en condiciones optimas de luz y temperatura, pero permanecen limpias y con tejidos firmes. En girasol las semillas frescas pueden ser consideradas como dormidas.

Stay green: atributo de algunos genotipos que son capaces de mantener el área foliar verde durante mayor tiempo a lo largo del llenado y maduración de los frutos.

Viabilidad: atributo fisiológico que indica si una semilla está viva (viable) o muerta (no viable). Esta clasificación se realiza a través de la tinción con sales de Tetrazolio, de acuerdo a su intensidad y distribución en los tejidos de las semillas.

Vigor: suma de las propiedades que determinan la actividad y performance de los lotes de semillas para una germinación aceptable en un amplio rango de ambientes, incluso bajo condiciones ambientales que no son óptimas para la especie.

## RESUMEN

Argentina es un destacado productor de semillas híbridas de girasol. La desecación química se emplea para adelantar la cosecha y reducir la incidencia de adversidades bióticas y abióticas. En cultivos para semilla, se desconoce el efecto de la práctica sobre la dinámica de secado de la planta en parentales femeninos, el rendimiento o la calidad del aceite de las semillas híbridas, la calidad fisiológica a cosecha y durante el almacenamiento y el posterior desempeño a campo. El objetivo general de esta tesis fue analizar el efecto del desecado químico en la deshidratación de la planta, el rendimiento de líneas parentales femeninas, la composición acídica y la calidad fisiológica de las semillas híbridas de girasol. Se realizaron siete experimentos en Buenos Aires y Venado Tuerto, utilizando seis parentales femeninos con diferente constitución genética y composición de aceite (alto oleico y alto linolénico). Los desecantes, Paraquat, Carfentrazone y Saflufenacil se aplicaron en el rango de 38-15 % de humedad de semillas. El Control permaneció en el campo hasta alcanzar 10 a 12 % de humedad. El Paraquat tuvo el mayor efecto desecante. La dinámica de secado fue diferente entre órganos, los frutos (semillas) se secaron más rápidamente que los receptáculos y tallos. Los indicadores visuales (necrosis y verdor) no se asociaron con la pérdida efectiva de humedad de los diferentes tejidos. La aplicación del desecante alrededor del 30% de humedad de semillas, anticipó la cosecha entre 23 y 43 días, sin efectos adversos sobre el rendimiento de las líneas parentales, ni el contenido o la composición de aceite de las semillas híbridas. El desecado no afectó la viabilidad (90-100%), aunque incrementó la dormición entre un 51 a 96 %. La cubierta seminal mostró una importante influencia en los niveles de dormición de las semillas de girasol tratadas con Paraquat, asociado con el aumento en el espesor de la pared celular externa de la capa de células endospermáticas. La desecación química con Paraquat benefició la calidad fisiológica de las semillas de girasol. Incrementó un 3 a 19 %, la germinación medida en semillas despiertas luego de la remoción del pericarpio + cubierta seminal. El vigor (estimado mediante de la Conductividad Eléctrica en semillas sin pericarpio) también fue mayor, con reducciones entre 0,9 a 50,2  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  respecto del control. La mejora en la calidad de las semillas cosechadas anticipadamente se asoció con una reducción en la exposición a condiciones ambientales adversas y resultó independiente de la constitución

genética de los híbridos. Los genotipos alto y mid oleico tuvieron menor calidad fisiológica. El Paraquat también benefició la germinación y el vigor durante el almacenamiento prolongado en galpón y cámara fría, sin efectos fitotóxicos. Los pequeños cambios en el contenido de aceite u oleico durante el almacenamiento, no se tradujeron en cambios en los niveles de germinación y vigor. La tasa de emergencia a campo (a los 6 y 19 meses desde cosecha) fue mayor en las semillas desecadas, con un mejor ajuste cuando se expresó en grados día/plántula. Los beneficios del desecado químico descritos en el presente trabajo, contribuyen a optimizar el proceso de producción y almacenamiento de las semillas de girasol.

Palabras clave: girasol, *Helianthus annuus* L., desecado químico, Paraquat, calidad de semillas, germinación, vigor.

## ABSTRACT

Argentina is a leading producer of sunflower hybrid seeds. Chemical desiccation is used to advance the harvest and reduce the incidence of biotic and abiotic adversities. In seed crops the effect of desiccation on drying rate of female parents plants, hybrid seeds yield or oil quality, physiological quality at harvest and during storage, and subsequent field performance, is unknown. The general objective of this thesis was to analyze the effect of chemical desiccation on plan drying, yield from female parents plants, acidic composition and physiological quality of hybrids sunflower seeds. Seven experiments were performed in Buenos Aires and Venado Tuerto using six female parents with different background genetic and seed oil composition (high oleic and high linoleic). Desiccants, Paraquat, Carfentrazone and Saflufenacil, were applied when the seeds presented between 38 and 15% moisture. Control remained in the field until reaching 10 to 12% seed moisture. Paraquat had the highest desiccation effect. The drying rate was different among organs, with fruits (seeds) drying faster than the receptacles and stems. Visual indicators (necrosis and greenery) were not associated with the effective moisture loss from the different tissues. Desiccant application around 30% seed moisture, advanced harvest between 23 and 43 days without adverse effects on the female parents yield, content or oil composition of hybrid seeds. Desiccation did not affect the viability of hybrid seeds (90-100%), although it increased dormancy between 51 to 96 %. The seed coat showed a significant influence on levels of dormancy of sunflower seeds treated with Paraquat, associated with the increase in the thickness of the outer cell wall layer of endospermatic cells. The chemical desiccation with Paraquat was beneficial to physiological quality of sunflower seeds. It increased the germination in seeds without dormancy after pericarp and seed coat removal by 3 to 19%. The vigour (estimated by electrical conductivity in seeds without pericarp) was also higher, with decreases between 0,9 to 50,2  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  compared to the control. The improvement in the quality of seeds harvested early was associated with a reduction in exposure to adverse environmental conditions. And it was independent of the genetic constitution of the hybrids. The high and mid oleic genotypes had lower physiological quality. Paraquat also had beneficial effects on germination and vigor during prolonged storage in room and cold chamber, without phytotoxic effects. Small changes in oil or oleic

content during storage did not represent changes in germination and seed vigor levels. The field emergency rate (at 6 and 19 months after harvest) was higher in the desiccated seeds, with a better fit when expressed in degrees day/seedling. The benefits of chemical desiccation described by this work help the optimization of production processes and storage of sunflower seeds.

Keywords: sunflower, *Helianthus annuus* L., chemical desiccation, seed quality, germination, vigour

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN GENERAL**

### **1.1 Tecnología de desecado, ventajas de su utilización en el cultivo de girasol.**

El cultivo de girasol es frecuentemente atacado por diferentes plagas (malezas, insectos, hongos y aves) en el período comprendido entre el llenado de grano y la cosecha (Cantamutto *et al.*, 2010; Presotto *et al.*, 2014; Renzi *et al.*, 2015). En nuestro país, en los últimos años ha aumentado exponencialmente el ataque de aves (palomas y cotorras) en el período de maduración, cosecha y secado del cultivo (Canavelli, 2010). Las poblaciones de aves generan cuantiosas pérdidas de pre-cosecha de alrededor de 400 a 1800 kg/ha (ASAGIR, 2008; Martiniagno y Casuso, 2015) y resultan varias veces superior a las admisibles en pre-cosecha para el cultivo (Bragachini *et al.*, 2012). Trabajos de Farrell (2010) y Zuil y Farrell (2014) recomiendan acortar el tiempo a cosecha del cultivo para minimizar el daño por pájaros, a través de la desecación química. Además, la aplicación de desecantes puede reducir las pérdidas por cabezal entre 50 a 30 kg/ha (Zuil y Farrell, 2014).

La desecación química consiste en la aplicación de herbicidas cuando las plantas alcanzan estadios cercanos a la madurez. Los productos desecantes varían en su composición química y son utilizados en gran cantidad de cultivos (Griffin *et al.*, 2010). El objetivo principal de esta tecnología es acelerar la cosecha a través de una desecación más rápida del follaje (Inoue *et al.*, 2003). Es especialmente recomendada para ambientes muy húmedos durante la maduración del cultivo, cuando los ataques de enfermedades son más intensos (Liovic *et al.*, 2008).

Existen varios principios activos que pueden ser empleados como desecantes en los cultivos extensivos. Uno de los más utilizados a nivel nacional e internacional es el Paraquat (PAR) (Bellé *et al.*, 2014). El PAR es un herbicida de contacto que demuestra una gran rapidez y efectividad en el secado de las plantas. Este producto pertenece a una clase toxicológica elevada (II), por lo que los riesgos ambientales de su uso inadecuado no deben ser ignorados. Como alternativa han aparecido en el mercado otros herbicidas con menores riesgos ambientales, como el Saflufenacil y el Carfentrazone pertenecientes a las clases toxicológicas III y IV respectivamente (McNaughton, 2015). Si bien los desecantes varían en su modo de acción, la mayoría produce la destrucción de aparato fotosintético, la

oxidación lipídica y la ruptura de las membranas celulares, ocasionando la pérdida de agua celular y la rápida desecación del follaje (Chaneva y Petrova, 2014). Para adelantar la cosecha, el desecado debe ocurrir no solo en el follaje, sino también en otros órganos de la planta como tallo principal, ramificaciones, frutos o semillas (Lacerda *et al.*, 2003).

Basados en el destino de producción, los cultivos de girasol pueden clasificarse en dos grupos, los destinados a la producción de semillas y los destinados al consumo directo (confitero) o indirecto (oleaginoso). Dado que la agricultura moderna generalmente utiliza cultivares híbridos, las semillas se generan mediante el cruzamiento controlado entre un parental femenino (con flores androestériles) y un parental masculino (polinizador), que cuenta con genes restauradores de la fertilidad (Fick y Miller, 1997). En cambio, los granos destinados al consumo directo o a la producción de aceite, generalmente se cosechan sobre cultivares híbridos, obtenidos por la cruce de dos o más líneas puras (Calzada y Terré, 2017).

## **1.2 Definición de calidad fisiológica de semillas.**

El empleo de semillas de alta calidad es una condición de gran relevancia para los productores, ya que mejora la probabilidad de obtener una buena implantación del cultivo a partir de una emergencia rápida y uniforme. Ello contribuye a fijar buenas condiciones del stand de plantas y alcanzar elevados rendimientos (Kausar *et al.*, 2009). La calidad de semillas involucra diversos atributos como la sanidad, la pureza física, botánica y genética, el tamaño, la germinación y el vigor (Peretti, 1994; ISTA, 2015)

El potencial fisiológico de una semilla o “calidad fisiológica” indica la capacidad para expresar sus funciones vitales en diferentes condiciones ambientales, siendo sus atributos más representativos la germinación y el vigor (Marcos Filho, 2015).

La germinación es un atributo de calidad substancial que se encuentra considerada en la legislación Argentina (Ley de semillas 20.247/1973 y Resolución SAGYP 2270/93) y en las normas internacionales (OECD, 2016). La *International Seed Testing Association* (ISTA) define a la germinación como la proporción de semillas que pueden originar plántulas

normales en condiciones óptimas de temperatura y luz para la especie (ISTA, 2015). En el caso del girasol, se emplea una temperatura de 25° C y 12 h. de alternancia de luz/oscuridad. Asimismo, ISTA (2015) considera como normal aquella plántula cuyo aspecto de sus estructuras esenciales indican si es capaz de desarrollarse satisfactoriamente en una planta en condiciones de campo.

El vigor se define como “la suma de las propiedades que determinan la actividad y performance de los lotes de semillas para una germinación aceptable en un amplio rango de ambientes”. Un lote de semillas es vigoroso si es potencialmente capaz de desempeñarse bien, incluso bajo condiciones ambientales que no son óptimas para la especie (ISTA, 2015). Aunque es un atributo que aún no está incluido en la legislación, muchas compañías semilleras establecen estándares mínimos para clasificar los lotes de acuerdo con sus exigencias comerciales (Marcos-Filho *et al.*, 2015), es decir destinan los lotes con mayor vigor a las regiones con condiciones de implantación menos favorables.

La capacidad de germinación y el vigor se originan durante el desarrollo de las semillas en la planta madre y por ello están afectados por el genotipo y las condiciones ambientales en que se produjo el desarrollo del cultivo. Los efectos genotípicos en girasol se refieren principalmente a los caracteres que aportan las líneas endocriadas que se emplean para la producción de los híbridos (simples o triples) (Fick y Miller, 1997). Los efectos ambientales se refieren principalmente a las condiciones experimentadas por la planta madre durante el desarrollo y crecimiento de las semillas. Las temperaturas y humedad extremas durante la maduración y el secado rápido o excesivo pueden reducir drásticamente la viabilidad de las semillas (Bewley y Black, 1994).

### **1.3 Morfología, crecimiento y maduración de los frutos de girasol.**

El fruto de girasol denominado botánicamente como “cipsela” (Vranceanu, 1977) se encuentra constituido por la semilla propiamente dicha, la cubierta seminal y el pericarpio (Figura 1.1 a y b). Es frecuente en la literatura que la semilla propiamente dicha sea designada con el término “embrión o pepita”. Para evitar confusiones y facilitar la lectura, a

las cipselas se les denominará “semillas” en los experimentos y referencias que empleen líneas parentales y “granos” en aquellos que utilicen híbridos comerciales.



Figura 1. 1. Fotografía de la cipsela de girasol (a) y sus partes constitutivas (pericarpio, cubierta seminal y semilla propiamente dicha). Detalle de la cubierta seminal (b).

Durante el crecimiento y desarrollo de la cipsela, el pericarpio y la semilla propiamente dicha siguen dinámicas diferentes de acumulación de peso seco (Mantese *et al.*, 2006; Lindström *et al.*, 2007) en períodos de tiempo que varían según el genotipo (Mantese *et al.*, 2006) y las condiciones ambientales (Lindström y Hernández, 2015). Una descripción detallada de los procesos de división y diferenciación celular, vinculando las escalas fenológicas con el tiempo térmico fue propuesto por Lindström y Hernández (2015) y se detalla en el anexo (Figura 1).

El crecimiento de la semilla propiamente dicha puede dividirse en tres fases (Figura 1.2a). Una primer fase (I) de división celular (fase lag), una segunda fase (II) caracterizada la expansión celular y el incremento en peso seco como resultado de la síntesis y deposición de sustancias de reserva (fase lineal) y una tercer fase (III) donde cesa el crecimiento (fase *plateau*) y se alcanza la madurez fisiológica (MF) (Bewley y Black, 1994). En girasol, la fase de división celular (I) continúa y se superpone con la etapa inicial de la fase de acumulación rápida de materia seca (II) (Lindström y Hernández, 2015). La máxima acumulación de materia seca se alcanza alrededor de los 30 días a partir de la antesis (Lindström y Hernández, 2015), principalmente a expensas de la deposición de aceite (Connor y Hall, 1997). Durante dichas fases también ocurren cambios en el contenido de agua (Bewley y Black, 1994). Luego de una fase de rápida absorción, la cipsela alcanza su máximo contenido de agua entre los 10 y 16 días desde la floración, reduciéndose linealmente a partir de allí, con dinámicas que varían de acuerdo al genotipo, ambiente y posición de las cipselas dentro del capítulo (Rondanini *et al.*, 2009).

A medida que acumulan peso seco, las semillas de girasol adquieren gradualmente su capacidad para germinar, produciéndose contemporáneamente la entrada en dormición (Figura 1.2b). La dormición impide la germinación de las semillas maduras, siendo un mecanismo de adaptación bien conocido en ecología de semillas (Baskin y Baskin, 2014).

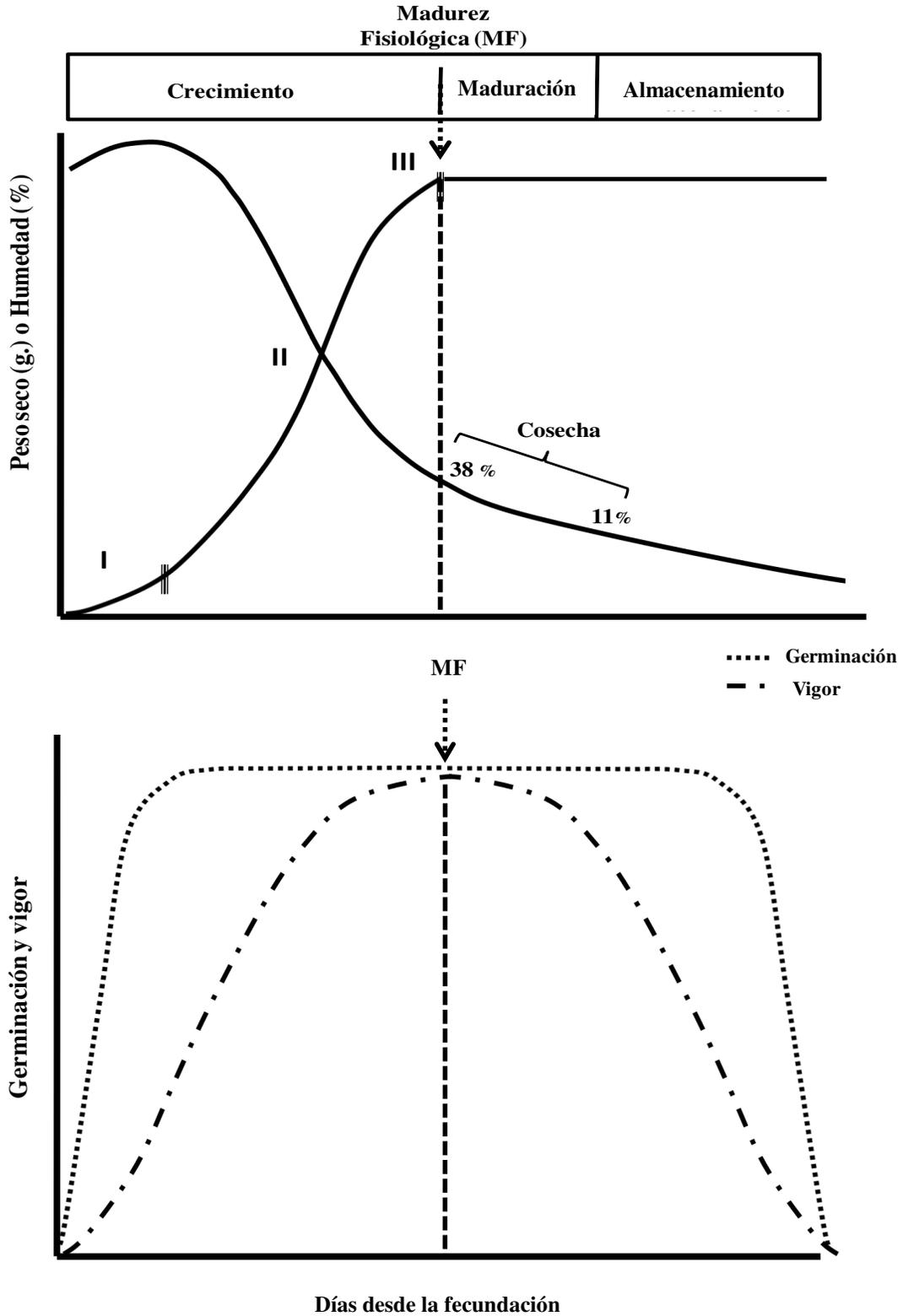


Figura 1.2. Diagrama conceptual integrador de la evolución del peso seco y la humedad (a) germinación y vigor (b) de las semillas de girasol a partir de la fecundación. Fuente: elaborado en base a Delouche y Cadwel (1960) y Dornbos Jr. (1995).

En girasol, la dormición está impuesta por el pericarpio y por controles hormonales en el embrión (Le Page-Degivry *et al* 1990; Brunick, 2007; Andrade *et al* 2015). En MF las semillas adquieren su máxima germinación y vigor (Figura 1.2b). En el caso de semillas dormidas, es necesario remover la dormición a fin de evaluar su máxima germinación. A partir de madurez fisiológica, la calidad de las semillas se reduce gradualmente a medida que progresa el deterioro (Dornbos Jr., 1994).

La MF del girasol aceitero se alcanza cuando las cipselas presentan 38% de humedad (Rondanini *et al.*, 2007; Guesh y Johnson, 2012). Sin embargo, la cosecha requiere que el contenido de humedad disminuya en una magnitud que depende del destino de producción. En lotes destinados a la producción de semillas la cosecha admite contenidos de humedad más elevados, estableciendo un límite superior en el rango de 27-30% (Renteria Com. Pers.). Mientras que en lotes destinados a la producción de aceite la cosecha se realiza en un rango más bajo de humedad del 16 al 13% (Bragachini *et al.*, 2012) (Figura 1.2a).

El término “Maduración” se empleará para referirse al período comprendido entre la MF y la cosecha (Figura 1.2a) y “Almacenamiento” al período inmediatamente posterior, cuando las semillas son cosechadas y almacenadas (Figura 1. 2 a). Durante la maduración y el almacenamiento las semillas de girasol también pierden gradualmente su dormición (Fick y Miller, 1997).

En Argentina solo el PAR, el Carfentrazone y el Diquat están registrados como desecantes para girasol (SENASA, 2015). Estos pueden ser aplicados en el cultivo con contenidos de humedad de semillas/granos que varían desde 50 hasta el 18%, abarcando la etapa de crecimiento y la etapa maduración de las mismas (Figura 1.2 a). Durante estas etapas las semillas sufren procesos metabólicos y morfológicos que son trascendentales para alcanzar y mantener su calidad, por lo que la aplicación de productos químicos en estas etapas puede ejercer modificaciones importantes en dichos procesos y comprometer su potencial fisiológico (Zhang *et al.*, 2016; Subedi, *et al.*, 2017).

La aplicación de desecantes puede acortar el período de cosecha desde 2 hasta 50 días, dependiendo del material genético, principio activo, dosis empleadas, momento de aplicación (antes, después o en MF) y condiciones meteorológicas existentes entre la aplicación y la cosecha (Gubbels y Dedio, 1985; Stahlman *et al.*, 2010). Por lo que el anticipo en la cosecha producido por el desecado, puede modificar el ambiente en el que ocurre la maduración de las semillas y ser determinante en el mantenimiento o alteración de su calidad fisiológica potencial.

### **1.5 Objetivo General**

El objetivo general de esta tesis fue analizar el efecto del desecado químico en la deshidratación de la planta, el rendimiento de líneas parentales femeninas, la composición acídica y la calidad fisiológica de las semillas híbridas de girasol.

### **1.6 Estructura de la tesis**

En el Capítulo II se analizó la dinámica de secado la planta de girasol luego de la aplicación de tres tipos de desecantes, tanto en líneas parentales femeninas como en híbridos comerciales. En la actualidad solo existen 3 productos registrados como desecantes en girasol a nivel nacional (SENASA, 2015) y en los antecedentes bibliográficos, se discute su efectividad y rapidez de acción. En las condiciones de producción de Argentina se desconoce el efecto que tienen los desecantes sobre la dinámica de secado de los granos/semillas. Si los desecantes logran acelerar el secado de las semillas, el anticipo en la cosecha puede otorgar las ventajas antes mencionadas. Para garantizar la eficiencia en la cosecha también debe considerarse el estado de otros órganos, como los receptáculos y tallos, ya que al ingresar verdes y húmedos en la cosechadora pueden perjudicar la capacidad de trilla y limpieza (Miller, 2002). Por tal razón, no solo se analizó la dinámica de secado de las semillas sino también la de tallos y receptáculos y su asociación. Para

facilitar la toma de decisiones, también se relacionó la dinámica de secado con características visuales del cultivo, cómo la pérdida de verdor en las hojas.

En el Capítulo III, se describen los efectos del desecado químico en el rendimiento de líneas parentales femeninas, el contenido y la composición de aceite de las semillas híbridas de girasol. Un punto clave de la tecnología de desecado es la decisión del momento oportuno para la aplicación de los desecantes (Kleingartner, 2010). Su aplicación anticipada y la cosecha previa al estado de MF pueden acortar la duración del llenado de las semillas, reducir su tamaño o bien alterar su composición química, con pérdidas considerables del rendimiento (Albrecht *et al.*, 2011; Kappes *et al.*, 2012; Lamego *et al.*, 2013). Mientras que su aplicación tardía no representa ventajas significativas en la anticipación de la cosecha, frustrando el objetivo principal de esta operación. Para las condiciones locales de producción es incierto el rango de humedad de semillas/granos que resulta óptimo para la aplicación de desecantes. Esta información es particularmente escasa en lotes de producción de semillas.

Los estándares de calidad para la comercialización de las semillas híbridas incluyen atributos distintos a los propuestos para los cultivos de grano. El rendimiento de las líneas parentales femeninas es crucial para decidir su aptitud como progenitor y representan una variable de ajuste desde el punto de vista económico para las empresas semilleras (Rentería, Com Pers). Las líneas parentales femeninas con bajo rendimiento pueden ser eliminadas del programa de mejoramiento a pesar de tener otros caracteres valiosos (Fick y miller, 1997). El tamaño o calibre también es considerado como un atributo de gran valor. Las semillas son clasificadas de acuerdo a grados desde las más grandes (G1) hasta las más pequeñas (G3 y E-especial), siendo más costosas las de mayor tamaño (Craviotto *et al.*, 2016). La composición acídica no está incluida en los estándares de comercialización de las semillas híbridas. Sin embargo puede tener una influencia importante en el deterioro de las semillas híbridas (Mourad *et al.*, 2016). Por lo que en el capítulo III, se estudiarán los efectos del desecado en i) el rendimiento de las líneas parentales femeninas y ii) en la concentración y composición de aceite de las semillas híbridas.

En el Capítulo IV se investigó el impacto de la desecación química sobre la calidad fisiológica inicial de las semillas de girasol. La calidad de las semillas es un aspecto crucial para garantizar la rápida y uniforme emergencia del cultivo. Como se mencionó anteriormente, en girasol los desecantes pueden ser aplicados durante la etapa de crecimiento y maduración de las semillas. Estos productos químicos pueden ejercer un efecto directo ingresando en los tejidos de las semillas y alterar su metabolismo (Daltro *et al.*, 2010; Marcandalli *et al.*, 2011; Toledo *et al.*, 2012; Albrecht *et al.* (2012). O bien, ejercer efectos indirectos, mediante el cambio en el ambiente en el que las semillas crecen (Kappes *et al.*, 2009; Bellé *et al.* 2014). A su vez, las semillas de girasol que son desecadas, podrían cosecharse anticipadamente, pudiendo aumentar los niveles de dormición (Crnobarac, 1987). Por esta razón también se consideraron las posibles consecuencias de la desecación química en los niveles de dormición de las semillas de girasol. En Argentina del uso de Paraquat como desecante se ha empleado para el adelanto en la cosecha ante ataques severos de enfermedades fúngicas (Pedraza *et al.*, 2001) y es una práctica habitual en los lotes de producción de semillas de girasol (Renteria Com. Pers.), sin embargo se desconocen los posibles efectos sobre su calidad fisiológica. Por lo cual la aplicación de desecantes y su influencia sobre la dormición, germinación y el vigor de las semillas de girasol es un área del conocimiento que requiere evaluación en las condiciones de producción Argentinas.

En el Capítulo V se analizó la influencia de la desecación química y la composición acídica en la calidad fisiológica de semillas durante el almacenamiento. El ciclo productivo de las semillas híbridas de girasol requiere tiempos de almacenamiento variables hasta la venta efectiva al productor (desde pocos meses a más de un año, si no es vendida en la campaña actual). Dicho almacenamiento puede hacerse en condiciones no modificadas, o bien en cámaras refrigeradas (en las industrias semilleras más capitalizadas). En girasol, la calidad de las semillas se reduce gradualmente durante el almacenamiento, con efectos adversos sobre la germinación y finalmente sobre el crecimiento y desarrollo de la futura planta (Krizmanić *et al.*, 2014). El estrés oxidativo, que se produce naturalmente durante el envejecimiento, puede ser potenciado por la aplicación del Paraquat, dada gran capacidad oxidativa (Vidović *et al.*, 2016). Así, es posible que los desecantes no afecten la calidad

inicial de las de las semillas, pero si tengan efectos perjudiciales a mediano plazo durante el almacenamiento. Por otra parte, la tolerancia a los cambios peroxidativos que ocurren durante el deterioro puede variar de acuerdo con la composición acídica de las semillas (Mc Donald, 1999) y las condiciones de almacenamiento (Balešević-Tubić *et al.*, 2005). Las semillas de girasol con altos contenidos de ácido oleico presentan mayor estabilidad oxidativa (Mourad *et al.*, 2016) por lo que, altos niveles de ácido oleico podrían contrarrestar los efectos de la oxidación (natural o producida por el PAR) y minimizar el deterioro de las semillas.

En el Capítulo VI se profundizó en la selección y jerarquización de test de vigor y su correlación con la emergencia a campo de las semillas de girasol desecadas. La tecnología de desecado puede generar variaciones en las condiciones de crecimiento, maduración, cosecha o almacenamiento de las semillas. Por lo que resulta necesario probar la eficiencia de diversos test de vigor para discriminar diferencias cuando las semillas son sometidas a tratamientos de desecado. Hasta el momento, los antecedentes bibliográficos sobre el efecto del desecado en la emergencia de las semillas de girasol a campo son escasos. A esto se le suma un grado de complejidad mayor si se considera que en la actualidad, tampoco existe consenso sobre cuál es el mejor estimador del vigor a campo de las semillas. Se hallan diversas formas para su determinación, que varían de acuerdo con la bibliografía consultada o el protocolo de las compañías semilleras

Finalmente, en el Capítulo VII se resumen los resultados y conclusiones y se plantean nuevas hipótesis y futuras líneas de investigación.

Se espera que la información generada en la presente tesis impacte positivamente en i) la industria semillera de girasol, acelerando los procesos productivos y manteniendo la calidad de la semilla producida, generando tests apropiados para medir el vigor de girasol, ii) contribuya a disminuir las pérdidas pre-cosecha causadas por plagas insectiles, aves y condiciones ambientales adversas, generando conocimiento novedoso sobre las tasas de secado de las diferentes partes de la planta en genotipos modernos de girasol y iii) contribuya al aseguramiento de la calidad e inocuidad de los granos producidos utilizando desecantes químicos.

## **CAPITULO II**

**DINÁMICA DE LA DESHIDRATACIÓN DE SEMILLAS, RECEPTÁCULOS Y TALLOS INDUCIDA POR TRES DESECANTES QUÍMICOS APLICADOS LUEGO DE MADUREZ FISIOLÓGICA DE GIRASOL**

## 2.1 INTRODUCCIÓN

Los principios activos comercialmente disponibles para acelerar la cosecha de girasol son escasos. Entre ellos, solamente el PAR, el Carfentrazone y el Diquat se encuentran registrados para su uso como desecantes en Argentina (SENASA 2015). Mientras que, el Saflufenacil se encuentra en proceso de evaluación y aprobación. Estos desecantes varían en su composición química y modo de acción.

El PAR (sal de 1,1'-Dimethyl-4,4'-bipyridino) es el herbicida de contacto, no selectivo, más ampliamente utilizado para la desecación de cultivos de grano (Bellé *et al.*, 2014). El producto actúa como inductor del estrés oxidativo, ejerciendo su efecto fitotóxico a través del desvío de electrones desde el Fotosistema I, lo que resulta en la generación de PAR oxidado. Este último interactúa fácilmente con el O<sub>2</sub> para generar superóxido y luego, a través de una cadena de reacciones, produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y radicales hidróxilos <sub>2,4</sub> (Chaneva y Petrova 2014). De esta manera destruye el tejido a través de la interrupción de la fotosíntesis, la oxidación lipídica y la ruptura de las membranas celulares, ocasionando la pérdida de agua por parte de las células y la rápida desecación del follaje (Chaneva y Petrova 2014). El PAR pertenece a la clase toxicológica II y usado en forma inadecuada, puede provocar contaminación del agua y efectos nocivos en la salud (Hashemi *et. al.*, 2017). Por esta razón surge la conveniencia de evaluar otros desecantes alternativos, como el Saflufenacil y el Carfentrazone, pertenecientes a clases toxicológicas menores (III y IV) y más seguros desde el punto de vista ambiental.

El carfentrazone etil [[etil-2-cloro-3-[2-cloro-4-fluoro-5-(4-difluorometil-4,5-dihidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il) fenil] propionato]] es un herbicida de contacto, que pertenece al grupo de las ariltiazolinonas. Su modo de acción consiste en la inhibición de la enzima protoporfirinógeno-IX-oxidasa (PPO), responsable de la formación de clorofila. Su efecto desecante se ejerce a través de la formación de intermediarios fitotóxicos y la interrupción de las membranas celulares (Rade y Cobb, 2002).

El Saflufenacil [N'-(2-chloro-4-fluoro-5-[1,2,3,6-tetrahydro-3-methyl-2,6-dioxo-4(trifluoromethyl) pyrimidin-1-yl]benzoyl)-N-isopropyl-N-methylsulfamide] es un herbicida sistémico y de contacto que también actúa sobre la enzima PPO en la ruta de la biosíntesis

de la clorofila ocasionando disrupción de las membranas celulares. Es absorbido por las raíces, hojas y meristemas, movilizándose fundamentalmente por xilema y relativamente poco por floema (Grossmann *et al.*, 2010).

Existen algunas controversias sobre la efectividad y la velocidad de la aparición de los efectos de los desecantes. El Saflufenacil podría ser más efectivo ya que al ser sistémico puede llegar más rápidamente a los distintos tejidos de la planta (Liebl *et al.*, 2008). Una ventaja adicional del Saflufenacil sería la ausencia de re-hidratación de los tejidos si ocurren precipitaciones luego de ser aplicado, mientras que ello puede suceder luego de aplicar PAR (Kleingartner, 2010). Por su parte, Stahlman *et al.* (2010) hallaron que la efectividad para el secado de plantas de girasol del Saflufenacil era equivalente a la del PAR.

La mayoría de los desecantes coincide en la destrucción de aparato fotosintético. A simple vista suele observarse la aparición de clorosis y manchas necróticas en los diferentes órganos de la planta. Los síntomas pueden variar de acuerdo con el principio activo y el órgano de la planta considerado. Algunos indicadores visuales, como la pérdida de verdor, el desprendimiento de las hojas, o el cambio en la coloración de las brácteas del receptáculo (Howatt, 2011), son utilizados habitualmente para decidir el inicio de la cosecha mecánica luego de la aplicación de los desecantes (Endres y Hendrickson, 2009). Sin embargo, las observaciones visuales pueden resultar variables e inefectivas para estimar el contenido de humedad de los diferentes órganos de la planta (Stahlman *et al.*, 2010) lo que puede llevar a decisiones erróneas del momento de cosecha. Por ello, resulta necesario relacionar la sintomatología externa de la planta con el contenido de humedad que efectivamente tiene cada órgano, a medida que la planta de girasol se deseca.

Si bien los indicadores visuales sirven de orientación, el criterio más utilizado para decidir la conveniencia de iniciar la cosecha mecanizada es la humedad de los granos (Larson *et al.*, 2008). En colza, la aplicación de PAR redujo significativamente la humedad de los granos a partir de los 7 días desde la aplicación (Esahani *et al.*, 2012). Toledo *et al.* (2012) en soja también detectaron reducciones en el contenido de humedad de las semillas a partir de los 7 días desde la aplicación de Glifosato, igualándose con respecto al control a

los 14 días. En girasol, el PAR aplicado antes que los frutos alcancen la MF, con 50% de humedad, puede acelerar el secado de los granos hasta llegar a niveles adecuados para la cosecha mecánica, debajo del 15 % (Johnson *et al.*, 2004). El Diquat aplicado con humedad más baja (40%) redujo un 10 % la humedad de los granos de girasol, mientras que su tasa de secado no se aceleró en aplicaciones realizadas con 17-13 % de humedad (Gubbels y Dedio, 1985).

Además de conocer el efecto sobre la dinámica de secado de los granos/semillas resulta importante identificar los efectos sobre el secado de otros órganos que también ingresan en la cosechadora, como receptáculos y tallos. Su estado y contenido de humedad tienen gran relevancia pues resultan decisivos para decidir el momento de la cosecha mecánica (Gubbels y Dedio, 1985). Cuando los tallos y receptáculos ingresan muy húmedos a la cosechadora, se originan defectos en la capacidad de trilla y limpieza la máquina (Johnson *et al.*, 2004). En otras especies como soja, el secado de los granos se aceleró a partir de los 7 días de aplicar PAR o Diquat, sin ocasionar modificaciones significativas en el contenido de humedad de tallos, ramificaciones o vainas (Lacerda *et al.*, 2003). En girasol, la desecación química disminuyó notablemente y en forma similar, la humedad de las hojas, tallos y receptáculos (Liović *et al.*, 2008). Sin embargo, en tratamientos con Diquat (Gubbels y Dedio, 1985) o con Saflufenacil (Stahlman *et al.*, 2010) observaron que los receptáculos y tallos de girasol se secaron más lentamente que los granos. Por otra parte, existen en el mercado genotipos de girasol que incluyen el carácter de lenta senescencia o “*stay green*” (de la Vega *et al.*, 2011). Dichos materiales son capaces de mantener el área foliar verde durante mayor tiempo a lo largo del llenado de granos (Barry, 2009.). Este carácter adiciona una mayor incertidumbre pudiendo ocasionar diferentes respuestas en la dinámica de desecación (Ongom *et al.*, 2016). En girasol, los desecantes generaron diferencias en la pérdida de humedad entre granos, receptáculos y tallos, con un mayor impacto en híbridos *stay green* (Johnson *et al.*, 2004).

La información disponible sobre el rango de humedad de semillas/granos que resulta óptimo para la aplicación de desecantes en cultivos de girasol para grano o semilla es escasa. Tampoco se conoce en profundidad el efecto de los desecantes químicos sobre la

dinámica de secado de las distintas partes de la planta. Por otra parte, resulta necesario evaluar con mayor exactitud cuáles son los valores de humedad de tallos y receptáculos que se asocian con la humedad de semillas dentro del rango cosechable y cómo se modifican al aplicar desecantes, tanto en cultivos para la producción de semillas como para grano.

Los objetivos e hipótesis de este capítulo fueron:

**Objetivo 2.1:** Describir y comparar la dinámica de secado de frutos, receptáculos y tallos de girasol luego de aplicar tres desecantes químicos en cultivos destinados a la producción de semillas y granos.

**Hipótesis 2.1:** La magnitud y velocidad de secado de la planta de girasol depende del tipo de desecante y de la tasa de senescencia foliar de los genotipos con diferente *stay green*.

**Hipótesis 2.2:** El desecado reduce rápida y significativamente la humedad semillas, receptáculos y tallos acortando el período para alcanzar condiciones aptas para cosecha mecánica de girasol, independientemente del destino de producción.

## 2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1 Sitio, material vegetal y condiciones de experimentación

El efecto de los desecantes sobre la dinámica de secado de diferentes órganos de la planta se evaluó tanto en cultivos destinados a la producción de semillas (aplicación en líneas parentales femeninas), como en cultivos destinados a la producción de granos para la extracción de aceite (aplicación en híbridos comerciales).

La desecación de la línea parental femenina destinadas a la producción de semillas híbridas se realizó en Venado Tuerto, Pcia. de Santa Fé, Argentina (33° 44' S; 61° 58'O) bajo dos fechas de siembra; 07 de Noviembre (experimento 1 = Exp.1) y 05 de Diciembre (experimento 2 = Exp. 2). El material genético fue provisto por el semillero Pannar S.A de Venado Tuerto. Se utilizó la línea parental femenina IL02 (androestéril) sembrada en

parcelas de 3 surcos de 5 m de largo, distanciados 0,70 m y a una densidad de 50.000 plantas/ha. La línea parental masculina IL06 (restauradora de la fertilidad) se sembró alrededor de los surcos de líneas parentales femeninas en 2 surcos de 5 m de largo, espaciados a 0,70 m. Previo a floración se cubrieron los receptáculos, se colectó polen del macho y se mantuvo refrigerado hasta su utilización en la polinización manual de los receptáculos hembra.

La desecación en híbridos comerciales se realizó en Buenos Aires (34° 59' S; 58° 48'O) con dos fechas de siembra; 17 de Diciembre (experimento 3 = Exp. 3) y 17 de Noviembre (experimento 4 = Exp. 4), empleando 3 híbridos comerciales contrastantes en cuanto a su calidad de aceite y velocidad de senescencia:

- i) Olisun 4 perteneciente a la empresa Advanta, alto oleico y de rápida senescencia.
- ii) Syn 3820 perteneciente a la empresa Syngenta, bajo oleico y de lenta senescencia.
- iii) Paraíso 20 (P20) perteneciente a la empresa Nidera, bajo oleico y de rápida senescencia)

Dichos híbridos se sembraron en parcelas de 3 surcos de 3 m de largo, distanciados 0,70 m y una densidad de 50,000 plantas/ha. En todos los experimentos el suelo era Argiudol típico. En los Exp. 1 y 2 perteneciente a la serie 'Santa Isabel' (70%) + serie 'Venado Tuerto' (30%) ([sisinta.inta.gov.ar](http://sisinta.inta.gov.ar)) y en los Exp. 3 y 4 correspondiente a suelos de relleno con elevado contenido de arcilla. Las parcelas fueron manejadas sin limitaciones nutricionales, plagas, malezas o enfermedades. Las precipitaciones fueron suplementadas con riego por goteo, para minimizar el déficit hídrico. La fenología fue registrada de acuerdo a Schneiter y Miller (1981) y expresada en días cronológicos. En los Exp. 1 y 2, los datos meteorológicos fueron obtenidos a partir de una estación automática (Pegasus EP2000, Columbia Weather Systems, Hillsboro, OR) ubicada en el campo experimental del semillero Pannar S.A., mientras que en los Exp. 3 y 4 se obtuvieron a partir del registro de Servicio Meteorológico Nacional (SMN). Se analizaron precipitaciones, humedad relativa, temperatura media, temperatura máxima y radiación, en los días posteriores a la

aplicación de los desecantes. La humedad de semillas y granos se determinó mediante método “*low temperature*” de ISTA (2015) luego de colocar las semillas a una temperatura de 103°C por 17 h  $\pm$  1 h. Las muestras fueron de 100 semillas con 8 repeticiones obtenidas a partir de 3 plantas por parcela, seleccionadas al azar y en competencia perfecta (plantas rodeadas por otras dispuestas en forma equidistante). Las semillas se extrajeron del tercio externo del receptáculo.

### 2.2.2 Tratamientos de desecado

Los desecantes aplicados fueron:

- i) PAR (1,1´dimetil-4,4´bipiridilo), nombre comercial Gramoxone®, perteneciente a la empresa Syngenta, en formulación líquida y una dosis de 2 l/ha,
- ii) Saflufenacil ([N'-(2-chloro-4-fluoro-5-[1,2,3,6-tetrahydro-3-methyl-2,6-dioxo-4-(trifluoromethyl)pyrimidin-1-yl]benzoyl)-N-isopropyl-N-methylsulfamide]), nombre comercial Heat®, perteneciente a la empresa Basf, en formulación polvo y una dosis de 60 g/ha,
- iii) Carfentrazone [[etil-2-cloro-3-[2-cloro-4-fluoro-5-(4-difluorometil-4,5-dihidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il) fenil] propionato]], nombre comercial Affinity® perteneciente a la empresa FMC, en formulación líquida y una dosis de 0,06 l/ha.

Las dosis fueron consistentes con la literatura y las recomendaciones de los marbetes. En los Exp. 1 y 2 los desecantes se aplicaron con pulverizadora de arrastre manual (El hornero, modelo experimental) y en los Exp. 3 y 4 con pulverizadora de mochila (Giber, EM 20). En todos los casos, se emplearon pastillas de cono hueco a 3 bares de presión y un volumen de 160 l/ha. Para asegurar el mojado del tercio superior de las plantas el botalón se ubicó a 20 cm por encima de la altura del cultivo.

Para explorar un rango amplio de humedades de aplicación, los desecantes se aplicaron con 38,6  $\pm$  0.8 %, 37,3  $\pm$  0.7%, 31,0  $\pm$  8.7 % y 15,0  $\pm$  1.6 % de humedad de semillas/granos en los Exp. 1, 2, 3 y 4 respectivamente (los valores indican la media  $\pm$  desvío estándar). Nótese que en los experimentos de híbridos comerciales (3 y 4) existen

diferencias notables en la humedad de aplicación. Por lo que en dichos experimentos se considerará, aplicación con “alta humedad” a la de  $31,0 \pm 8.7\%$  (correspondiente al Exp. 3) y aplicación con “baja humedad” a la de  $15,0 \pm 1.6 \%$  (correspondiente al Exp. 4). Los valores representan el promedio de humedad el día de la aplicación para todos los híbridos y tratamientos. Los tratamientos desecados y el control (sin desecante) permanecieron en el campo hasta alcanzar un  $10 \%$  de humedad de semillas/granos.

### 2.2.3 Variables medidas

En intervalos regulares de tiempo (2, 3 o 4 días) desde la aplicación (días desde la aplicación, DDA) hasta el  $10 \%$  de humedad de semillas y granos, se realizaron las siguientes determinaciones:

- Indicadores visuales, mediante i) el índice de verdor en hojas (SPAD, Minolta) en 3 plantas por parcela seleccionadas al azar y en competencia perfecta, sobre 3 hojas del estrato superior del canopeo. Esta variable se evaluó en los Exp. 3 y 4, ii) la pérdida de verdor en receptáculos y tallos, evaluando desde una apreciación visual, la proporción de manchas necróticas, mediante una escala de 0 (necrosis no visible) a 100 (tejidos del órgano completamente necróticos). Esta variable se evaluó en los Exp. 1 y 2.

- Humedad granos/semillas, receptáculos y tallos, mediante la diferencia entre el peso fresco y seco luego de colocarlos a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante. Se muestreó un segmento de tallo de 10 cm, por debajo de la hoja más cercana al receptáculo; una fracción correspondiente a  $1/8$  del receptáculo y una fracción de semillas correspondiente a  $1/8$  de receptáculo. Esto se efectuó en 3 plantas por parcela seleccionadas al azar y en competencia perfecta, en los Exp. 1, 2, 3 y 4.

- Relación entre la humedad de receptáculos/tallos y la humedad de granos/semillas: dada la importancia del contenido de humedad de estos órganos en el momento de la cosecha, se comparó la dinámica de secado de los receptáculos/tallos con la dinámica de los granos/semillas. De esta manera es posible conocer con mayor exactitud qué contenido de humedad presentaban el receptáculo y el tallo en el momento en el cual los granos/semillas alcanzaban su humedad óptima de cosecha. Esta relación se analizó inicialmente solo en tratamientos con PAR, separando los lotes de producción de semillas con líneas parentales

femeninas (Exp. 1 y 2) de los lotes para grano con híbridos comerciales (Exp. 3 y 4) con el objetivo de detectar diferencias en las respuestas. Posteriormente se la evaluó considerando el conjunto de Exp. (1, 2, 3 y 4) y desecantes (PAR, Saflufenacil, Carfentrazone).

#### **2.2.4 Diseño experimental y Análisis estadístico**

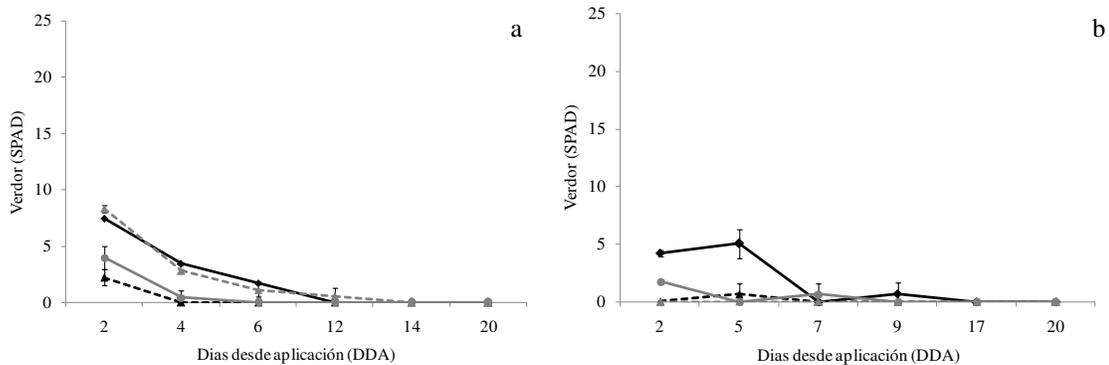
En todos los Exp. se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con los genotipos y tratamientos de desecado distribuidos al azar. En los Exp. 1 y 2 se emplearon 2 repeticiones, mientras que en los Exp. 3 y 4 se utilizaron 3 repeticiones. Los datos se analizaron mediante ANDEVA y las medias se separaron mediante LSD ( $p < 0,05$ ). Previo a los análisis, los valores expresados en porcentaje fueron transformados por arcoseno (Little, 1985). La variabilidad entre las repeticiones se determinó mediante el cálculo del error estándar. Es posible que en las figuras algunas barras de error no se vean porque son más pequeñas que el tamaño de símbolo elegido. Se considera que dos puntos difieren en forma significativa cuando las barras de error estándar no se tocan entre sí (Cumming *et al.*, 2007). Las asociaciones entre la humedad de receptáculos/ tallos y la humedad de granos/semillas se realizaron mediante ajustes polinómicos de 2° y 3° orden. En cambio su relación con las variables meteorológicas, se analizó mediante el análisis de correlación de Pearson. Los resultados se analizaron utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

### **2.3 RESULTADOS Y DISCUSION**

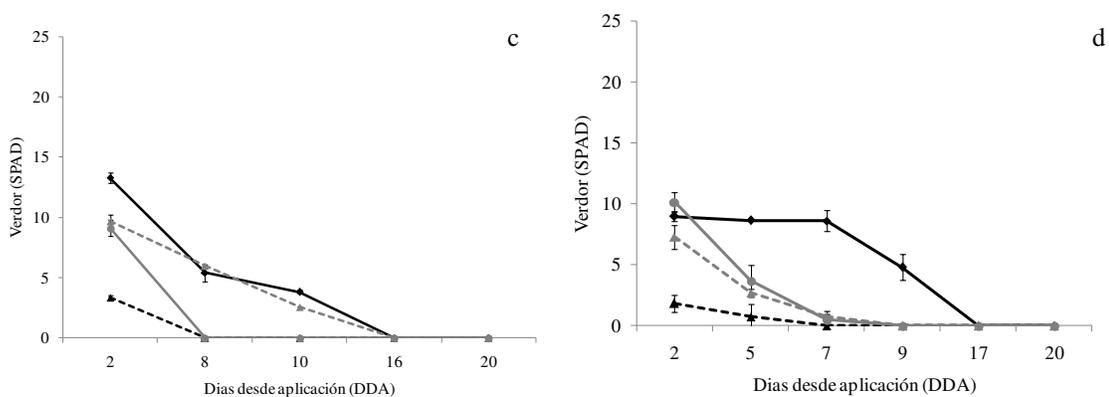
#### **2.3.1 Pérdida de verdor e indicadores visuales**

La pérdida de verdor ocurrió muy rápidamente dentro la primera semana desde la aplicación (desde los 2 a los 9 DDA), especialmente con PAR en la mayoría de los híbridos comerciales (Figura 2. 1).

P20



Olisun 4



Syn 3820

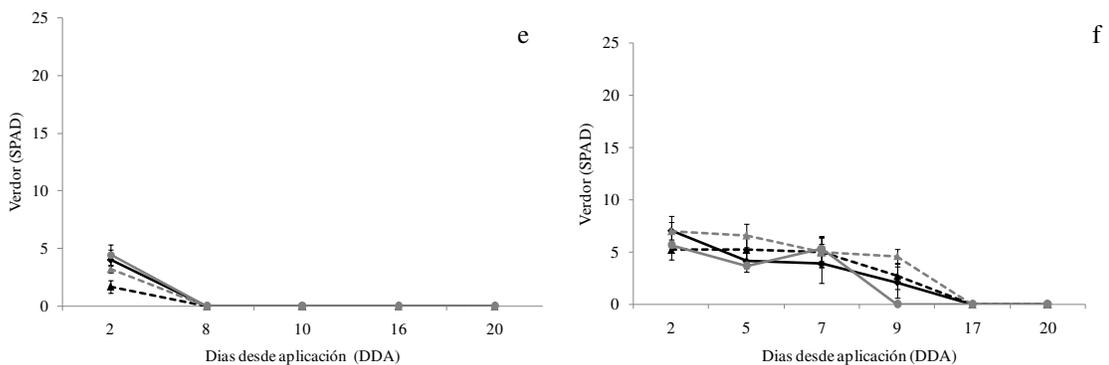


Figura 2.1. Evolución del Verdor (SPAD) del estrato superior de hojas de girasol bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 3 “aplicación con alta humedad” (a, c, e) y experimento 4 “aplicación con baja humedad” (b, d, f) para los híbridos comerciales (P20, Olisun 4 y Syn 3820). Las barras muestran el error estándar.

Dichos resultados coinciden con Gubbels y Dedio, (1985) quienes indicaron que el secado de las hojas ocurre rápidamente entre los 8 a 15 días desde la aplicación de Diquat.

El cambio del verdor en los híbridos P20 y Olisun 4 fue similar en los Exp. 3 y 4, es decir, tanto en aplicaciones con alta (31%) como con baja (15%) humedad de granos (Figura 2.1 a, b, c, d). En todos los casos el desecante PAR ocasionó las mayores reducciones en el verdor y su efecto fue muy evidente a los 2 DDA. En el híbrido con *stay green* (Syn 3820) la pérdida de verdor también ocurrió entre los 2 DDA (Figura 2.1 e) y los 9 DDA (Figura 2.1 f), mostrando una pérdida de verdor similar a los híbridos sin *stay green* (P20 y Olisun 4), luego del desecado.

Además se observó decoloración de los receptáculos y tallos (Tabla 2.1). En el Exp. 1, el PAR tuvo un elevado porcentaje de manchas necróticas desde los 6 DDA, diferenciándose de los controles y los demás desecantes (Tabla 2. 1; Figura 2.2).

Tabla 2.1. Porcentaje de tejido necrosado luego del desecado con PAR, Saflufenacil, Carfentrazone y Control a los 6 y 20 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1. Valores de acuerdo a la escala 0 = necrosis no visible a 100 = 100 % del tejido del receptáculo y tallo necrosados.

	Receptáculos		Tallos	
	6 DDA	20 DDA	6DDA	20 DDA
PAR	40 A b *	100 A a	70 A b	100 A a
Saflufenacil	30 AB b	100 A a	20 B b	100 A a
Carfentrazone	20 B b	100 A a	20 B b	100 A a
Control	0,5 C b	10 B a	0,5 C b	10 B a

\*Letras minúsculas indican diferencias significativas entre DDA y mayúsculas entre desecantes ( $p < 0.05$ ).

Hacia los 20 DDA el porcentaje de tejido necrosado de los receptáculos y tallos en los tratamientos desecados alcanzó una necrosis del 100%, sin diferencias significativas entre sí (Tabla 2.1; Figura 2.3). Los controles solo mantenían un 10% del tejido necrosado (Tabla 2.1; Figura 2.3). El mayor porcentaje de tejido necrosado en el tratamiento con

PAR, también se observó en el Exp. 2. Debido a que este experimento fue sembrado más tarde (5 de diciembre), la completa necrosis apareció en un lapso de tiempo más breve que en el Exp. 1, a los 9 DDA (Figura 2.4), sin diferencias visibles entre desecantes.



Figura 2.2. Intensidad de manchas necróticas en receptáculos y tallos bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d) a los 6 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1.



Figura 2.3. Intensidad de manchas necróticas en receptáculos y bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d, e) a los 20 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 1.

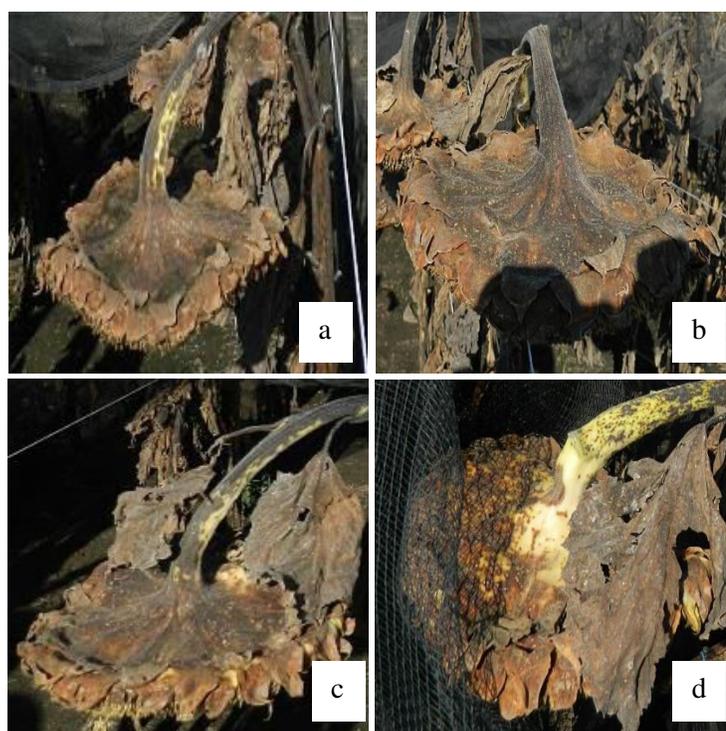


Figura 2.4. Intensidad de manchas necróticas en capítulos y tallos bajo desecado con PAR (a), Saflufenacil (b), Carfentrazone (c) y Control (d, e) a los 9 días desde la aplicación (DDA) en Venado Tuerto, experimento 2.

### 2.3.2 Dinámica de secado de granos/semillas, receptáculos y tallos

2.3.2.1 *Dinámica de secado de híbridos comerciales (Exp. 3 y 4)*: la aplicación de desecantes modificó la dinámica de secado de granos, receptáculos y tallos, con diferencias que dependieron del contenido de humedad inicial:

i) En aplicaciones con alta humedad (31%, Exp. 3) el PAR redujo rápidamente (6 - 8 DDA) la humedad de los granos, receptáculos y tallos (Figura 2.5). En promedio para los tres híbridos y hacia los 20 DDA, la humedad de los granos, receptáculos y tallos tratados con PAR alcanzó disminuciones de 30 %, 60- 70 % y 50-60 %, respectivamente (Figura 2.5). La disminución en la humedad de los granos, receptáculos y tallos con Saflufenacil y Carfentrazone apareció más tarde y fue de menor magnitud en la mayoría de los híbridos (Figura 2.5).

ii) En aplicaciones con baja humedad (15%, Exp. 4), el PAR también redujo rápidamente la humedad de los granos, receptáculos y tallos (Figura 2.6). La caída promedio de la humedad de granos con PAR fue solo del 10% para los tres híbridos (Figura 2.6 a, d, g). El efecto del PAR en receptáculos y tallos fue mayor que en los granos (Figura 2.6), reduciendo la humedad con respecto al control, en un 70 % y 60 %, respectivamente (Figura 2.6 b, c, e, f, h, i).

Independientemente de la humedad de aplicación de los desecantes, el híbrido con *stay green* (Syn 3820) no mostró un comportamiento que lo distinguiera del resto de los genotipos. Así, dicho carácter no modificó la dinámica de desecado de granos, receptáculo y tallos.

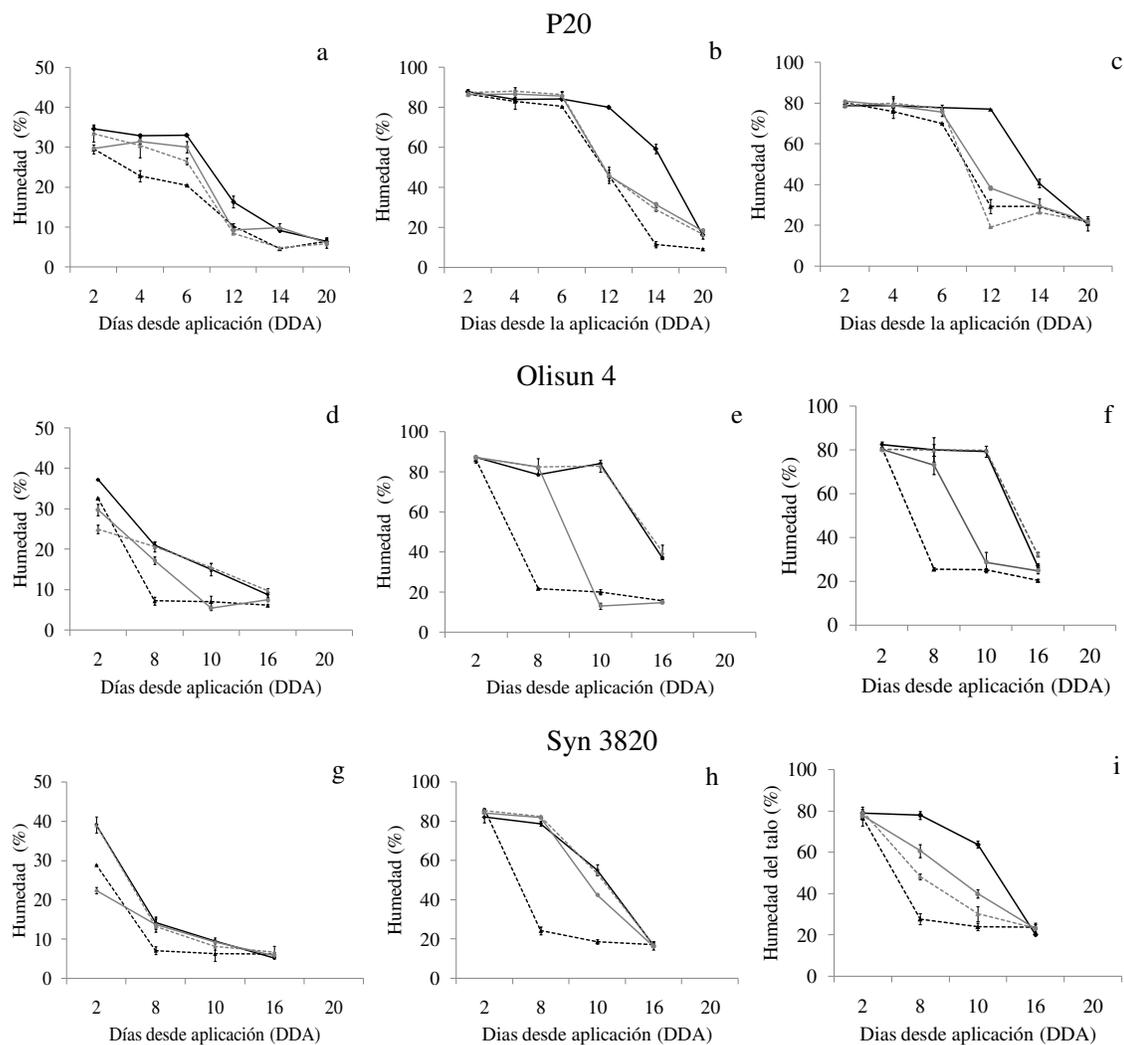


Figura 2.5. Evolución de la humedad de los granos (a, d, g), receptáculos (b, e, h) y tallos (c, f, i) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 3 (aplicación con “alta humedad” = 31%) para los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.

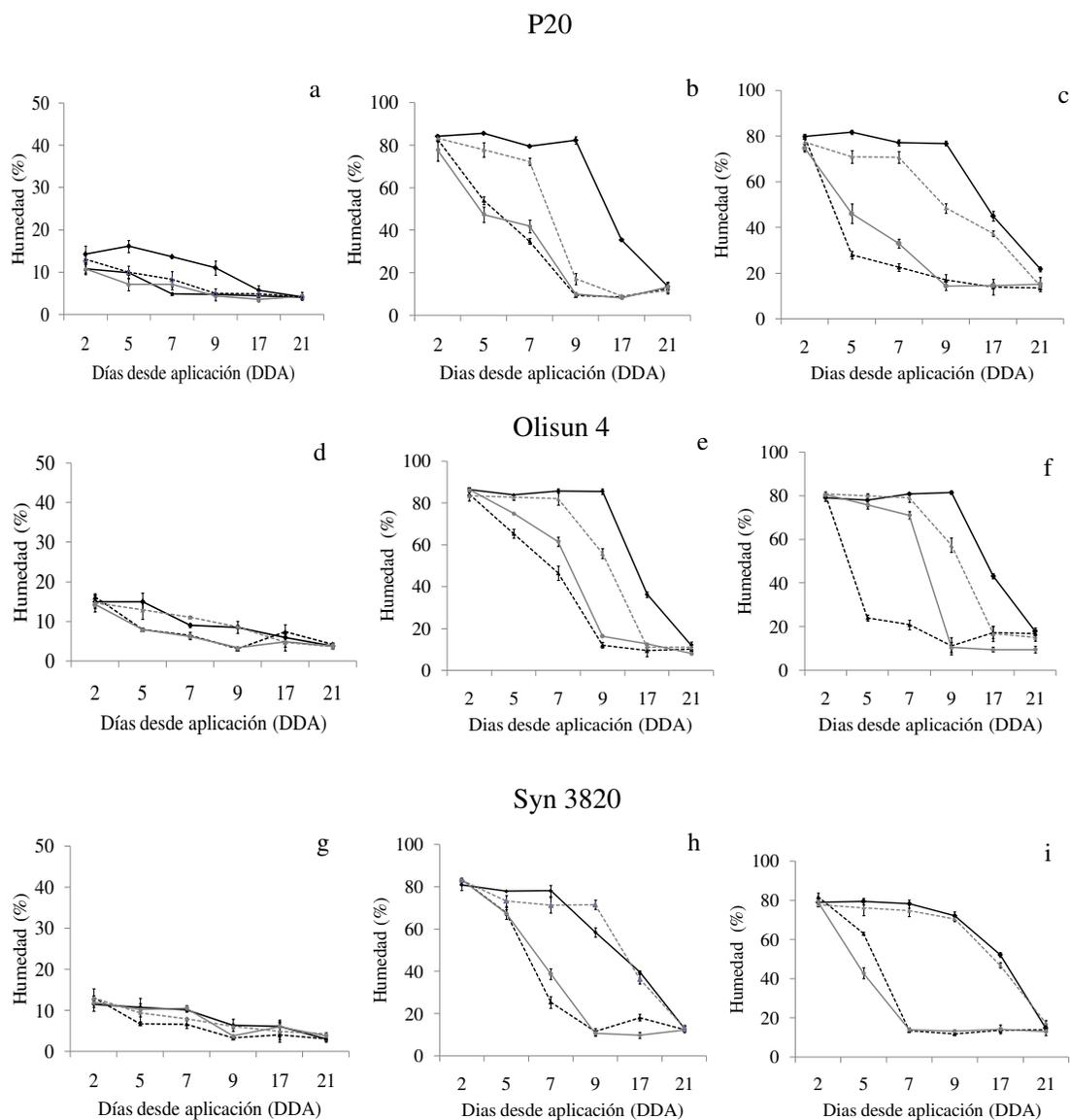


Figura 2.6. Evolución de la humedad de los granos (a, d, g), receptáculos (b, e, h) y tallos (c, f, i) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Buenos Aires, experimento 4 (aplicación con “baja humedad” = 15%) en los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.

2.3.2.2 *Dinámica de secado de la línea parental femenina (Exp. 1 y 2)*: El secado de las semillas fue rápido entre los 6 y 16 DDA en el Exp. 1 y entre los 4 y 8 DDA en el Exp. 2 (Figura 2.7 a, b). El PAR produjo el mayor secado con reducciones del 21 y 15 %, respectivamente. El secado por parte del Saflufenacil y Carfentrazone fue menor y apareció más tarde a partir de la aplicación (Figura 2.7 a, b).

La humedad del receptáculo permaneció por encima del 80 %, sin diferencias significativas entre desecantes, hasta los 20 DDA y 8 DDA en los Exp. 1 y 2, respectivamente (Figura 2.7 c, d). A partir de allí bajó solo un 18 % con PAR en el experimento 1 y un 14% en el experimento 2. Los receptáculos del control permanecieron con más del 80 % de humedad hasta los 22 DDA (cuando las semillas tenían 10% de humedad) (Figura 2.7 c, d).

El secado de los tallos se produjo antes y fue de mayor magnitud que en el caso de los receptáculos, especialmente en tratamiento con PAR (Figura 2.7 e, f). Hacia el final de la etapa de secado se redujo un 50% y 47 % con respecto al control en los experimento 1 y 2, respectivamente (Figura 2.7 e, f).

Los desecantes Saflufenacil y Carfentrazone redujeron el contenido de humedad de receptáculos y tallos más tarde y en menor proporción que el PAR (Figura 2.7 c, d, e, f).

El análisis conjunto de todos los experimentos reveló diferencias entre los desecantes en los indicadores visuales y en la dinámica de secado de la planta. Si bien se obtuvieron respuestas al desecado con productos menos peligrosos desde el punto de vista ambiental, como el Saflufenacil, el PAR fue el principio activo que tuvo el mayor efecto desecante en la mayoría de los órganos y en todos los experimentos. Una alta efectividad para el secado de girasol con PAR fue también observada por Stahlman *et al.* (2010).

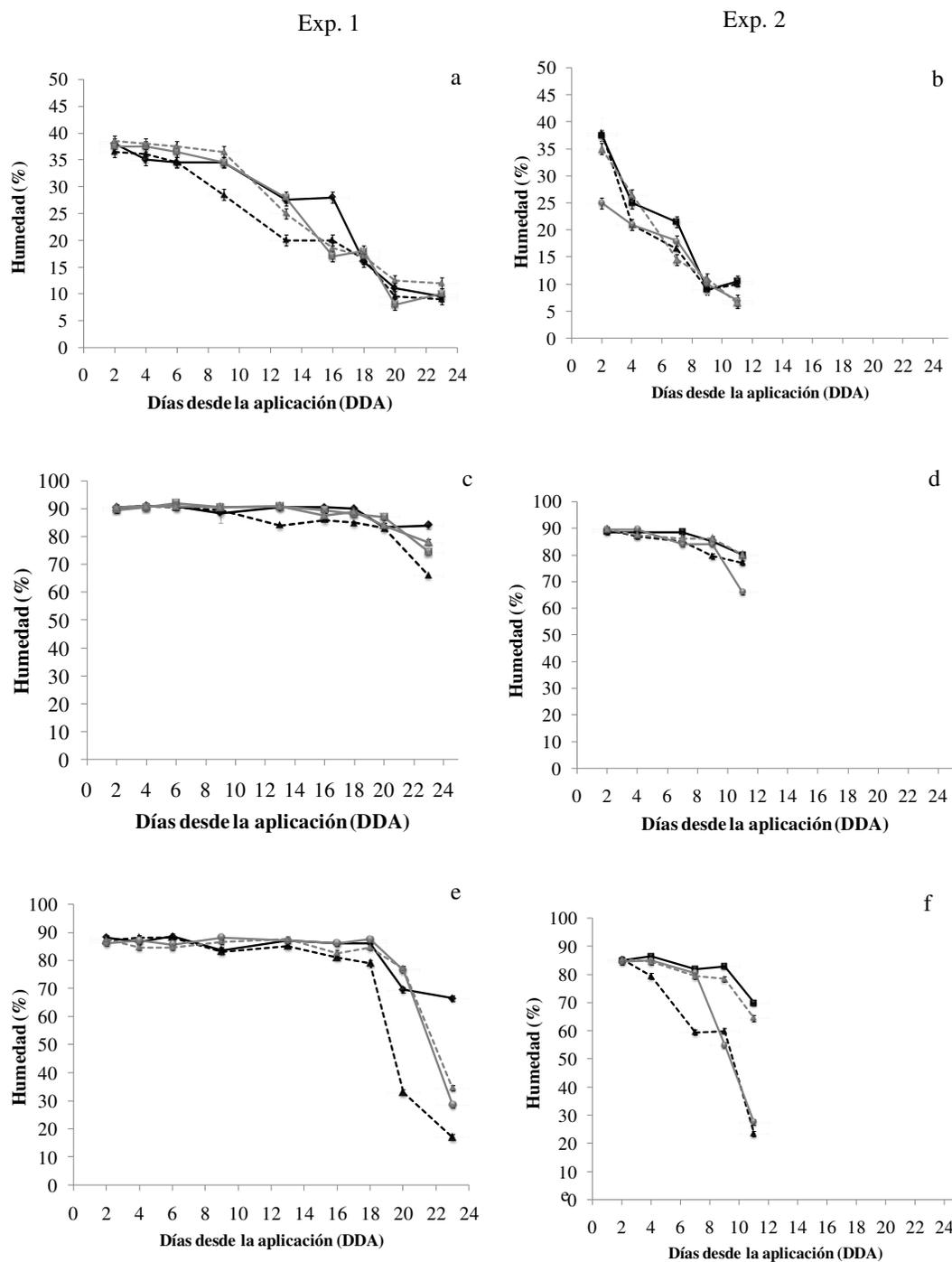


Figura 2.7. Evolución de la humedad de las semillas (a, b), receptáculos (c, d) y tallos (e, f) bajo desecado con PAR (líneas negras punteadas), Saflufenacil (líneas grises continuas), Carfentrazone (líneas grises punteadas) y Control (líneas negras continuas) en Venado Tuerto, experimentos 1 (a, c, e) y 2 (b, d, f) para la línea parental femenina IL01. Las barras muestran el error estándar.

Los indicadores visuales evidenciaron una importante necrosis de hojas, receptáculos y tallos desde los primeros días de aplicación, siendo el PAR el desecante más efectivo. Luego de aplicar PAR Endres y Hendrickson (2009) también observaron una alta proporción de manchas necróticas en hojas, aunque la pérdida de coloración de los receptáculos fue menor. En los Exp. 1 y 2, la pérdida de verdor no se acompañó con disminuciones importantes en el contenido de humedad de los diferentes órganos, especialmente en el caso de los receptáculos y tallos que permanecieron muy húmedos (>80%) hasta el final de la etapa de desecación (Figuras 2.5 a 2.7). Por lo tanto, los indicadores visuales estuvieron poco asociados con la humedad efectiva de las semillas/granos, receptáculos y tallos. Estos resultados coinciden con Stahlman *et al.*, (2010) quienes mencionaron que las escalas visuales sobreestiman el contenido de humedad de los diferentes órganos, independientemente del momento de aplicación de los desecantes.

La dinámica de desecado fue diferente según el órgano y el momento desde la aplicación. La pérdida de agua de las semillas/granos comienza antes, en los primeros días desde la aplicación (2 – 6 DDA), concordando esto con lo observado por Toledo *et al.* (2012) y Esfahani *et al.* (2012). Las mayores diferencias entre los desecantes y el control en la dinámica de secado de las semillas/granos se produjeron cuando los desecantes se aplicaron con contenidos de humedad cercanos a MF (31- 38 %). Aplicar con contenidos de humedad más bajos (15%), no ocasionó modificaciones importantes en la dinámica de secado de los granos y además no permitiría un sustancial adelanto en la cosecha que justifique económicamente la aplicación. Por otra parte, aplicaciones demasiado cercanas a este punto de MF podrían producir perjuicios en el rendimiento o la calidad de las semillas, el contenido de aceite o su composición. Detectar un rango de humedad de semillas “óptimo” para la aplicación, que no implique pérdidas de rendimiento ni calidad y conocer cuánto representa en días de adelanto en la cosecha son aspectos que serán analizados con mayor profundidad en el siguiente capítulo.

Los receptáculos y tallos se secaron varios días más tarde que las semillas/granos, recién a partir de los 20 DDA. Los tallos redujeron más el contenido de humedad con

respecto al control que las semillas y los receptáculos. Estos resultados coinciden con lo mencionado con Gubbels y Dedio (1985) y Stahlman *et al.*, (2010) quienes también hallaron que los receptáculos y tallos se secan más lentamente que los granos. Las dinámicas de secado de semillas, receptáculos y tallos no habían sido descriptas anteriormente bajo condiciones locales ni frente a la aplicación de desecantes, siendo este otro aspecto original de esta tesis.

El secado diferencial entre órganos podría deberse su estado hídrico en el momento de aplicación de los desecantes. Las semillas y granos tenían de un contenido de humedad mucho menor que los receptáculos y tallos (38 vs. 90 %, respectivamente). Otros aspectos de la morfología y fisiología de la planta podrían explicar el secado diferencial de las semillas con respecto al resto de los órganos. Dado que las semillas no mantienen conexiones vasculares con la planta madre luego de MF (Egli., 2017), su secado puede depender del gradiente de humedad con respecto al aire (Atkinson *et al.*, 2016). Sin embargo, en los Exp. 1 a 4, no se hallaron correlaciones significativas entre la humedad de las semillas/granos y la humedad relativa del aire (datos no mostrados). Es posible que pueda existir alguna asociación si se considera la humedad relativa y la temperatura en su conjunto (déficit de presión de vapor) (Georgii *et al.*, 2017). Por otro lado, las características físicas propias de los tejidos de las semillas pueden regular el movimiento de agua, como la cantidad de ceras cuticulares (Schreiber y Riederer, 1996; Franchini *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2017), las variaciones en el grosor del pericarpio o su separación con respecto a la semilla propiamente dicha (Denis *et al.*, 1994; Mantese y Medan, 2006).

Contrariamente a lo mencionado por Larson *et al.*, (2008), las diferencias en la tasa de senescencia entre híbridos (con y sin *stay green*) no afectaron la disminución de humedad frente a la aplicación de desecantes. Esto puede deberse a que la acción de los desecantes es de mayor magnitud a la que puede existir en la tasas de senescencia en los materiales modernos de girasol evaluados, aunque esta tendencia debería corroborarse en mayor cantidad de materiales genéticos.

### 2.3.2.3 Relación entre la humedad de receptáculos/tallos vs. granos/semillas.

En lotes destinados a la producción de semillas el rango de humedad de cosecha admite variaciones entre el 15 a 30 %. En nuestras condiciones de experimentación y para la línea parental femenina IL01, este rango de humedad de semillas coincidió con contenidos de humedad de los receptáculos por encima del 80%, aún bajo el tratamiento de PAR (Figura 2.8 a). El contenido de humedad de los tallos se redujo significativamente a partir del 22,5 % de humedad de semillas (Figura 2.8 b) y podría estimarse en niveles superiores al 65% en el momento en que las semillas alcanzan el 15 % de humedad (límite mínimo admitido para la cosecha).

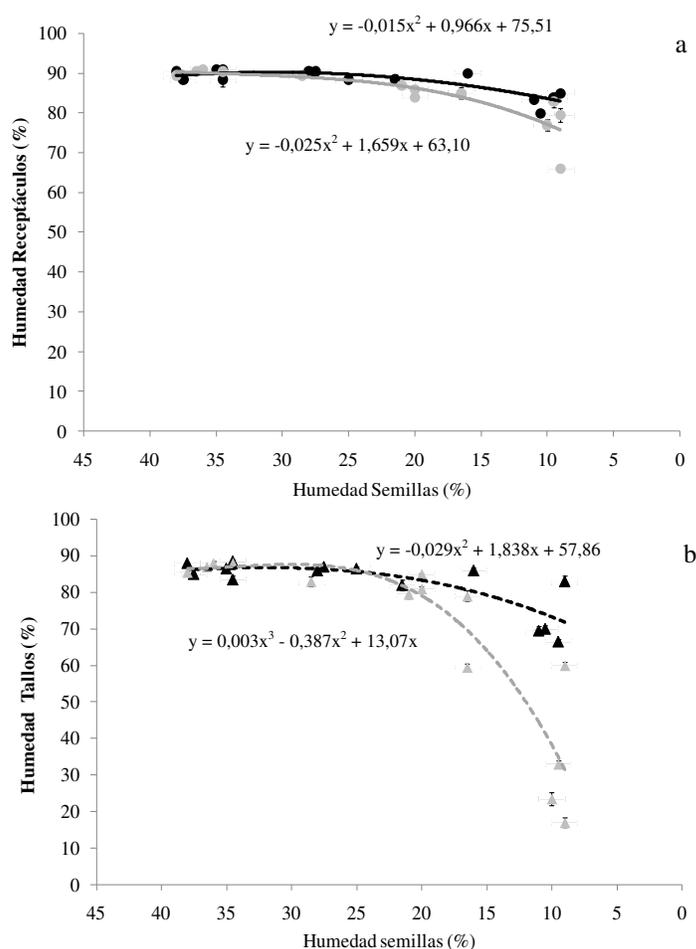
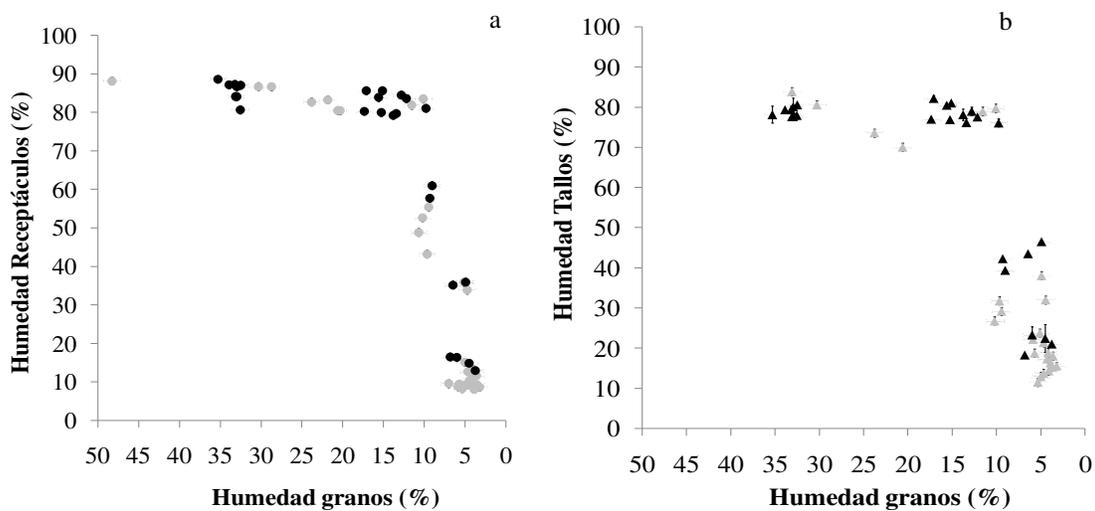


Figura 2.8. Relación entre la humedad de los receptáculos (a) y tallos (b) y la humedad de las semillas para los tratamientos de desecado con PAR (líneas grises) y el Control (líneas negras) en Venado Tuerto, experimentos 1 y 2 para la línea parental femenina IL01. Las barras muestran el error estándar.

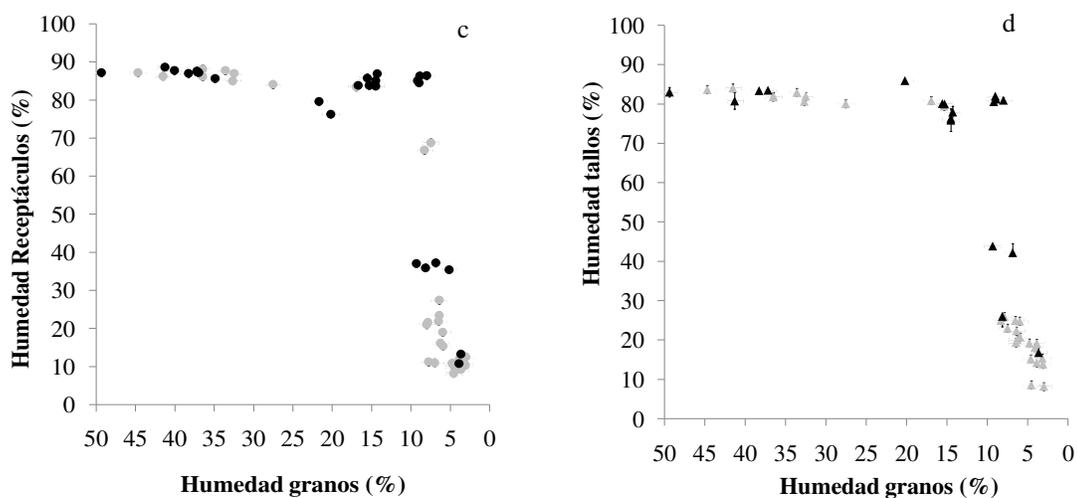
Los cultivos para grano admiten una humedad de cosecha entre 13 a 16 %. En las aplicaciones de desecantes con alta y baja humedad (experimentos 3 y 4), dicho rango coincidió con contenidos de humedad de receptáculos y tallos por encima del 70% (Figura 2.9). El desecado químico redujo significativamente el contenido de humedad de tallos y receptáculos después de que los granos alcanzaran el 10 % de humedad (Figura 2.9).

Para establecer una tendencia general, en la Figura 2.10 se muestra la evolución e la humedad de receptáculos y tallos en función de la humedad de semillas/granos agrupando los experimentos (1, 2, 3 y 4) y desecantes. Cuando las semillas/granos alcanzan contenidos de humedad aptos para la cosecha (alrededor del 16 %), los receptáculos y tallos permanecen con niveles muy elevados de humedad (>80%), incluso aplicando bajo la aplicación de desecantes. Solo se alcanzan contenidos de humedad aptos para la cosecha (50-40 %) cuando las semillas/granos tienen contenidos de humedad inferiores al 10% (Figura 2.10). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Larson *et al.*, (2008) quienes observaron que la dinámica de desecado era diferente entre los órganos de la planta, con altos niveles de humedad de receptáculos y tallos cuando los granos alcanzaron rangos de humedad cosechables.

P20



Olisun 4



Syn 3820

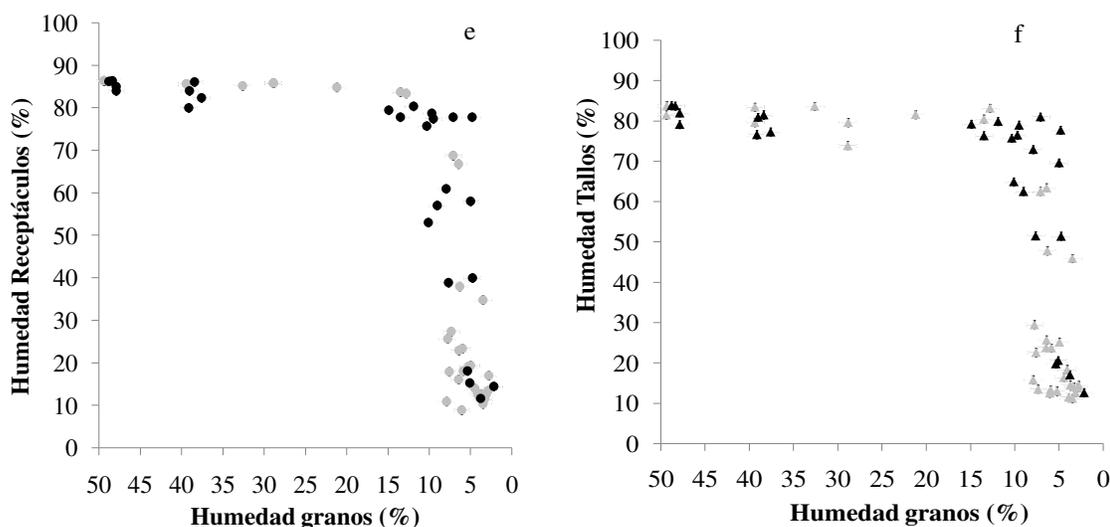


Figura 2.9. Relación entre la humedad de los receptáculos (a, c, e) y tallos (b, d, f) y la humedad de los granos para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros) en Buenos Aires, experimentos 3 (a, c, e) y 4 (b, d, f) para los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.

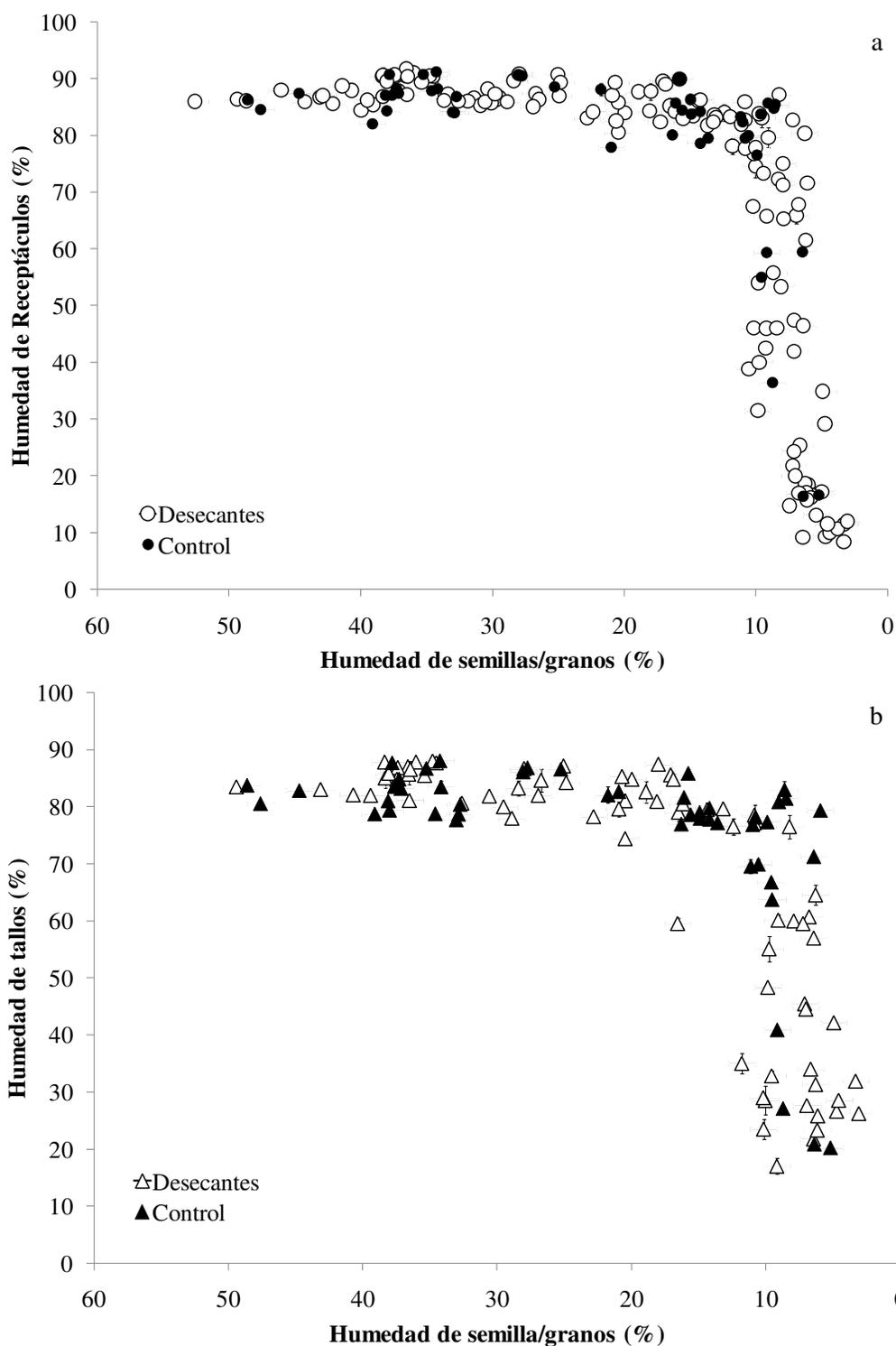


Figura 2.10. Relación entre la humedad de los receptáculos (a) y tallos (b) y la humedad de los granos/semillas con desecantes (símbolos blancos) y el Control (símbolos negros) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1, 2, 3 y 4 para la línea parental femenina IL01 y los híbridos comerciales P20, Olisun 4 y Syn 3820. Las barras muestran el error estándar.

La falta de secado de los receptáculos y tallos puede relacionarse con las condiciones meteorológicas existentes en el período posterior a la aplicación. En el Exp. 1 se observaron altos porcentajes de humedad relativa del aire (> 70%) acompañados de altos niveles de precipitaciones (80 mm) (Figura 2.11 a). En el Exp. 2 la humedad relativa también fue elevada (Figura 2.11 b). En los experimentos 3 y 4, la humedad relativa osciló en porcentajes entre 60 y 70% con menores precipitaciones (Figura 2.11 c, d).

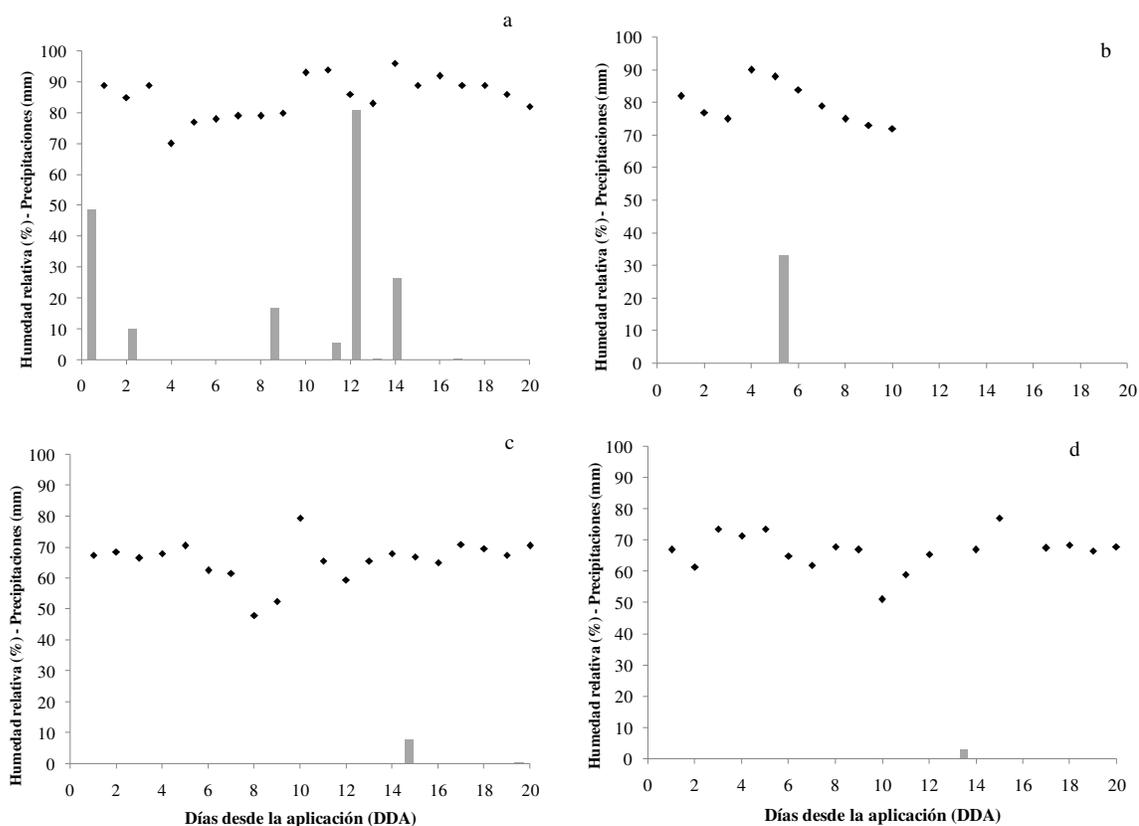


Figura 2.11. Evolución de las precipitaciones (barras grises) y la humedad relativa (símbolos negros) a partir de los días desde la aplicación (DDA) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 (a), 2 (b), 3 (c) y 4 (d).

Se detectaron correlaciones significativas ( $p < 0,05$ ) entre la humedad relativa del aire y el contenido de humedad de los receptáculos y tallos, con mayores coeficientes en los tratamientos con PAR (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Coeficientes de correlación de Pearson entre la humedad de los receptáculos y tallos y la humedad relativa del aire en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 a 4. Los asteriscos indican correlaciones significativas ( $P < 0,05$ ),  $n = 46$ .

Humedad Relativa del aire		
Humedad	Control	PAR
Receptáculos	0,31*	0,52*
Tallos	0,28 ns	0,47*

\* Valores con p significativos; ns= no significativo

Stahlman *et al.*, (2010) mencionan una importante influencia de las condiciones climáticas en el secado natural de las plantas de girasol, detectando que ambientes con altas temperaturas y baja humedad relativa pueden secar las plantas rápidamente y minimizar el efecto de los desecantes. Lacerda *et al.*, (2003) y Pereira *et al.* (2015) indican que las precipitaciones ocurridas en los días posteriores a la aplicación pueden enmascarar el efecto de los desecantes igualando el contenido de humedad entre los tratamientos desecados y el control. Los mismos autores desaconsejan el uso de desecantes en ambientes con altos niveles de precipitaciones en el período de cosecha de soja (Lacerda *et al.*, 2001). Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran un comportamiento similar en nuestras condiciones de experimentación. A pesar de que el PAR aceleró el secado de la planta, se detectó una alguna influencia de las condiciones meteorológicas. Por lo que en ambientes de alta humedad, la dinámica de secado de receptáculos y tallos podría ser más dependiente de las condiciones climáticas que de la aplicación de desecantes. La dependencia de las condiciones meteorológicas no es menor, si se considera que el uso de desecantes está principalmente recomendado en ambientes muy húmedos para minimizar el ataque de plagas y enfermedades.

Algunas etapas del proceso productivo de girasol como la cosecha resultan críticas, pueden representar grandes riesgos y asociarse a pérdidas económicas muy importantes. El desecado es una herramienta útil para adelantar la cosecha, minimizar las pérdidas precosecha y contribuir en la eficacia del sistema de producción. Desde el punto de vista

del manejo, la dinámica de secado de la planta y semillas/granos, plantea la necesidad de tomar diferentes recaudos en base al destino de producción de los cultivos de girasol:

- i) En cultivos para producción de semillas, pocos días de adelanto en la cosecha representan grandes beneficios, especialmente cuando las semillas se utilizarán para siembras en contraestación o en el Hemisferio opuesto. Dada su importancia para el establecimiento de los cultivos, las semillas son producidas bajo normas estrictas de calidad. Cada una de las etapas de producción es planificada y monitoreada permanentemente siguiendo protocolos específicos de cada empresa semillera. La cosecha se realiza con un contenido de humedad más alto que en los cultivos para granos (rango de 30 a 15%). En este rango, la aplicación de desecantes resulta útil para acelerar el secado de las semillas en pocos días. Los altos niveles de humedad de los receptáculos y tallos no representan un obstáculo para la trilla, ya que el secado de las semillas puede complementarse con secadoras de aire fluido a temperatura ambiente.
  
- ii) En cultivos con híbridos comerciales, la humedad de granos aconsejada para la cosecha varía entre 13 a 16 % (Bragachini *et al.*, 2012). En nuestros experimentos dicho rango coincidió con contenidos de humedad de receptáculos y tallos > 70% (Figura 2.9) y solo se redujo significativamente con el desecado después de que los granos alcanzaran el 10 % de humedad (Figura 2.9). De modo que, en los cultivos para grano y en ambientes con alta humedad resulta necesario tomar mayores precauciones al momento de recomendar el desecado. En este sentido, se deben analizar la factibilidad económica según el nivel de pérdidas (por ejemplo ocasionados por aves, enfermedades de fin de ciclo, riesgo de vuelco) y el costo de aplicación. Si el riesgo de sufrir pérdidas es elevado, entonces el uso de desecantes debe estar acompañado de un correcto monitoreo de las condiciones meteorológicas y prestar especial atención a los pronósticos de precipitaciones.

## 2.4 CONCLUSIONES

En las condiciones de estos experimentos, el PAR fue el desecante más efectivo en todos los órganos y genotipos. La velocidad de desecado de los órganos no se asoció con las diferencias en la tasa de senescencia foliar entre genotipos. También se observó que la pérdida de verdor no puede ser usada como indicador para decidir la cosecha, ya que no se asoció con la humedad que efectivamente pierde cada órgano a partir de la aplicación del desecante.

Cuando los desecantes se aplican con contenidos de humedad cercanos a MF (31- 38 %), las semillas se secan más rápidamente que los receptáculos y tallos. Estos últimos permanecen con altos contenidos de agua, aún cuando las semillas llegan al 10 % de humedad. El secado de los receptáculos y tallos depende de la humedad relativa del aire, mientras que el de las semillas dependería de regulaciones propias de sus tejidos.

El desecado con PAR genera condiciones aptas para cosecha mecánica solo en los lotes destinados a la producción de semillas, ya que los receptáculos y tallos pueden secarse en forma complementaria con secadoras de aire fluido. En cambio en los lotes para producción de grano, el mantenimiento de los receptáculos y tallos con altos niveles de humedad, aún con desecado, obliga tomar mayores recaudos al momento de recomendar esta tecnología.

### **CAPITULO III**

#### **EFFECTOS DEL DESECADO QUIMICO SOBRE EL RENDIMIENTO, EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE ACEITE DE LAS SEMILLAS HIBRIDAS DE GIRASOL**

### 3.1 INTRODUCCIÓN

La tecnología de desecación involucra un conjunto de operaciones que deben ser consideradas si se pretende garantizar mejoras en la eficiencia y calidad de la cosecha mecánica (INTA, 2009). Un punto clave de esta tecnología es la decisión del momento adecuado de aplicación de los desecantes (Kleingartner, 2010). La aplicación anticipada de los desecantes, previa al estado de MF, puede acortar la duración del llenado de granos, reducir su tamaño (Kappes *et al.*, 2012) o bien alterar su composición química (Albrecht *et al.*, 2011). Mientras que aplicaciones en forma tardía desaprovechan las ventajas del anticipo en la cosecha (Lamego *et al.*, 2013) frustrando el objetivo principal de esta operación.

El momento oportuno de aplicación de desecantes en los diferentes cultivos aún se encuentra en discusión y sus efectos sobre el rendimiento cambian de acuerdo al componente considerado. En colza, la aplicación de PAR en momentos cercanos a la MF (35 % de humedad de granos) produjo iguales o mayores rendimientos, manteniendo el peso de los granos y la composición de aceite. Sin embargo redujo ligeramente el contenido de aceite (Esahani *et al.*, 2012). En el mismo cultivo y condiciones similares de aplicación, Marchiori *et al.* (2002) no observaron variaciones en el rendimiento, peso de granos o el contenido de aceite, pero hubo reducciones significativas en el contenido de proteínas. En aplicaciones más avanzadas (16% de humedad de granos), Albrecht *et al.* (2013) no encontraron variaciones en el rendimiento o peso de los granos de colza.

En soja el efecto de los desecantes en el rendimiento ha sido ampliamente estudiado, con discusiones también centradas en el estado de desarrollo para la aplicación de los desecantes. A diferencia de otros cultivos, para describir el momento de aplicación de los desecantes, se menciona al estadio fenológico (según Fehr y Cavines, 1971) en vez de el contenido de humedad de los granos. Aplicaciones tempranas, en el estadio de R2, no perjudicaron el peso de granos o el rendimiento pero redujeron significativamente el contenido de aceite y proteínas (Albrecht *et al.*, 2011). Aplicaciones más avanzadas en el ciclo (R6) ocasionaron importantes reducciones en el rendimiento y el peso de los granos,

debido a la interrupción en la acumulación de materia seca (Lacerda *et al.*, 2001). Mientras que, las aplicaciones realizadas luego de la MF (R7 en adelante), no modificaron el peso de los granos o el rendimiento (Lacerda *et al.*, 2001; Lamego *et al.*, 2013). Guimarães *et al.* (2012) tampoco detectaron modificaciones en el rendimiento o peso de semillas, atribuyendo la falta de respuesta a la existencia de un déficit hídrico que anticipó la MF en todos los tratamientos dedesecado. Desde R7 en adelante, Pereira *et al.* (2015) no encontraron modificaciones en el rendimiento, ni el número de granos por planta. El peso de las semillas fue menor en tratamientos con Glufosinato de amonio y PAR, solo en una de las variedades. En los mismos estadios, con altas infestaciones fúngicas, Inoue *et al.* (2012) hallaron mayor rendimiento y peso de las semillas de soja luego de la aplicación de Diquat.

En girasol aceitero las semillas alcanzan la MF con un contenido de humedad en el rango de 38-40% (Rondanini *et al.*, 2007; Gesch y Johnson, 2012). La cosecha previa al estado de MF puede acortar la duración del llenado de granos, reducir su tamaño o bien alterar su composición química. Por lo que también en este cultivo aún se encuentra en discusión el contenido de humedad oportuno para la aplicación de los desecantes y el impacto en el rendimiento y sus componentes.

En girasol, la aplicación de desecantes dos semanas antes de comienzo del llenado de granos, Shafiullah *et al.* (2001) produjo reducciones significativas en el rendimiento, peso de granos y contenido de aceite y oleico, dependiendo de la dosis y el producto colocado. Aplicaciones de Saflufenacil, Glifosato y PAR con 50% de humedad de granos no redujeron el rendimiento, aunque si se detectó una ligera disminución en el contenido de aceite (Stahlman *et al.*, 2010). En contraste, Howatt *et al.* (2009) hallaron menor rendimiento y contenido de aceite en los granos de híbridos comerciales de girasol desecados con 50 % de humedad. Dentro de los resultados reportados para aplicaciones de desecantes entre el 40-35 % de humedad, Howatt *et al.* (2009), Endres y Hendrickson (2009) y Stahlman *et al.* (2010) no obtuvieron cambios significativos en el rendimiento o el contenido de aceite de girasol. En contraste, Larson *et al.* (2008), observaron menor rendimiento comparado con el tratamiento control, aunque el contenido de aceite y el peso

de los granos no fue influenciado por la desecación. Cuando se aplicó por debajo del 30 % humedad de granos de girasol también se observaron resultados divergentes. La aplicación con 30 % de humedad (Stahlman *et al.*, 2010; Pereira Da Silva, 2011) o menor como 24 % de humedad (Rana *et al.*, 1989), no afectó el rendimiento. Sin embargo, Liović *et al.* (2010) detectaron menor rendimiento luego de la aplicación de Diquat o Dimethipin con 14-18 % de humedad de granos. En la producción de girasol para grano, aplicaciones con contenidos de humedad por debajo del 18 % generalmente carecen de justificación económica ya que implican mínimos adelantos con respecto a la cosecha tradicional.

La bibliografía citada en los párrafos precedentes refiere solamente a los efectos de desecantes en cultivos para grano, siendo escasa la información disponible en cultivos de girasol destinados a la producción de semillas (Pereira Da Silva, 2011). En la producción de semillas híbridas suelen utilizarse como líneas parentales femeninas líneas puras o bien híbridos. El presente análisis estuvo orientado especialmente a los efectos del desecado haciendo énfasis en los atributos de producción de las diferentes líneas parentales femeninas y la calidad de las semillas híbridas.

La comercialización de las semillas híbridas se rige por estándares que son diferentes a los establecidos para la comercialización de granos. Una variable importante para las empresas semilleras, desde el punto de vista económico, es el rendimiento de las líneas hembra. Este resulta crucial al momento de decidir su aptitud como progenitor (Fick y Miller, 1997). Conjuntamente se incorpora el tamaño como un atributo de gran valor, clasificando a las semillas de acuerdo a grados desde las más grandes (G1) hasta las más pequeñas (G3 y E-especial), siendo más costosas las de mayor tamaño (Craviotto *et al.*, 2016). Existe además una alta contribución materna en la calidad de las semillas de girasol (Kannababu y Karivaratharaju, 2000) y algunos caracteres que aportan las líneas madre, como la composición acídica, puede tener una influencia importante en el deterioro de las semillas híbridas (Mourad *et al.*, 2016). Por lo que en el presente capítulo se estudiarán por un lado, los efectos del desecado en el rendimiento de las líneas parentales femeninas y, por el otro en la concentración y composición de aceite de las semillas híbridas.

La industria semillera de girasol de Argentina es consciente de las ventajas de la desecación química y utiliza habitualmente esta práctica, pero desconoce los efectos sobre el rendimiento, sus componentes y el contenido o la composición del aceite. Estos tópicos aún no han sido evaluados en materiales genéticos, ambientes o condiciones nacionales de producción de semillas híbridas.

Los objetivos e hipótesis de este capítulo fueron:

**Objetivo 3.1:** Analizar la influencia del desecado químico sobre el rendimiento de líneas parentales femeninas de girasol, el contenido y la composición acídica de las semillas híbridas.

**Hipótesis 3.1:** La aplicación de PAR alrededor del 30% de humedad, no compromete el período de llenado de las semillas, manteniendo inalterado el rendimiento de las líneas parentales femeninas, así como el contenido y la composición acídica de las semillas híbridas de girasol.

## **3.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.2.1 Sitio, material vegetal y condiciones de experimentación**

Los experimentos fueron llevados a cabo en Venado Tuerto, Provincia de Santa Fe, Argentina (33° 44' S; 61° 58' O) en tres fechas de siembra: 25 de Septiembre de 2011(experimento 5 = Exp. 5), 31 de Octubre de 2011 (experimento 6 = Exp. 6) y 5 de noviembre (experimento 7 = Exp. 7) de 2012. El material genético utilizado en el presente capítulo fue provisto por el semillero Pannar S.A. y será mencionado de aquí en adelante, de acuerdo con la codificación que se detalla a continuación (Tabla 3.1):

Tabla 3.1. Estructura genética y características de las semillas híbridas utilizadas en los experimentos del capítulo III.

Composición de las cruzas			Características del híbrido	
Código	Línea femenina	Línea masculina	Tipo de cruzamiento	Composición de aceite
G1	IL02	IL06	Simple	Bajo Oleico
G2	IL00 XIL01	IL07	Triple	Bajo Oleico
G3	IL10	IL11	Simple	Alto Oleico
G3'	IL03	IL08	Simple	Alto Oleico
G4	IL04	IL08	Simple	Medio Oleico
G5	IL05	IL09	Simple	Bajo Oleico

G1, G2 y G3 fueron producidos en los Exp. 5, 6 y 7, mientras que G3', G4 y G5 solo se sembraron en el Exp. 7. La selección de materiales, planificación y ejecución de los cruzamientos fue realizada bajo las recomendaciones y asesoramiento del Ing. Agr. Santiago Renteria, responsable del programa de mejoramiento de girasol de Pannar S.A.

Las líneas parentales femeninas fueron sembradas en 8 hileras, espaciadas a 0,70 m y 5 m de longitud. Las líneas parentales masculinas se sembraron alrededor de las hileras femeninas en 4 surcos de 5 m de largo, espaciados a 0,70 m. La densidad final de plantas fue de 5 plantas/m<sup>2</sup>. El suelo del sitio experimental fue un Argiudol típico (70% serie 'Santa Isabel' + 30% serie 'VenadoTuerto', sisinta.inta.gov.ar). Las parcelas fueron manejadas sin limitaciones nutricionales, plagas, malezas o enfermedades. Las precipitaciones fueron suplementadas con riego por goteo para minimizar el déficit hídrico. La fenología fue seguida de acuerdo a Schneiter y Miller (1981) y expresada en días cronológicos desde la siembra. Los datos meteorológicos fueron obtenidos de una estación automática (Pegasus EP2000, Columbia Weather Systems, Hillsboro, OR) ubicada en el campo experimental. Se registró precipitación, humedad relativa, temperatura media, temperatura máxima y radiación en los períodos R9-cosecha. La humedad de las semillas se determinó en muestras de 100 de semillas con 8 repeticiones obtenidas a partir de 3 plantas por parcela, seleccionadas al azar y en competencia perfecta. Las muestras se extrajeron del tercio externo del receptáculo. El contenido de humedad fue calculado mediante método

“*low temperature*” de ISTA (2015) luego de colocar las semillas a una temperatura de 103°C por 17 h  $\pm$  1 h.

### 3.2.2 Tratamientos de desecado

Los tratamientos aplicados en las líneas hembra fueron: (i) desecación química con PAR y (ii) desecación física por Corte Manual del capítulo (CM) con cuchillo (Exp. 5 y 6). En el tratamiento con PAR el tercio superior de la planta fue rociada con 2 L.ha<sup>-1</sup> de PAR (Marca comercial Gramoxone, Syngenta) en una solución con agua al 1% v/v. Se utilizó un pulverizador de mochila equipada con boquillas de cono hueco a una presión de 3 bares. El tratamiento de CM del capítulo simuló una cosecha anticipada sin aplicación de desecante y se realizó con el objetivo de detectar otros efectos químicos o bioquímicos del PAR.

El PAR fue aplicado en el estado de R8, cuando las semillas presentaban una humedad del 27,4  $\pm$  0,5 % en el Exp. 5, 30,3  $\pm$  0,5 % en el Exp. 6 y 27,2  $\pm$  0,4 % de humedad en el Exp. 7 (los valores indican la media  $\pm$  desvío estándar). Los capítulos del tratamiento con PAR fueron cosechados 4 días después de su aplicación (Figura 3.1), cuando las hojas se encontraban de color marrón, se caían al tocarlas y las semillas alcanzaron un contenido de humedad de 25,8  $\pm$  4,7 % (Exp. 5), 25,0  $\pm$  2,2 % (Exp. 6) y 23,1  $\pm$  2,5 % (Exp. 7). Los capítulos del tratamiento con CM fueron cosechados el día en el que aplicó el PAR (Figura 3.1), con un contenido de humedad de semillas de 23,7  $\pm$  1,5 % (Exp. 5) y 28,4  $\pm$  0,4 % (Exp. 6). Los capítulos de ambos tratamientos (PAR y CM) fueron acondicionados con un flujo de aire forzado a temperatura ambiente durante 48 horas, hasta que las semillas alcanzaron un 7-10% de humedad. Las plantas control permanecieron en el campo hasta que las semillas alcanzaron un contenido de humedad de 10, 12 y 10 % de humedad los Exp. 5, 6 y 7, respectivamente (Figura 3.1.).

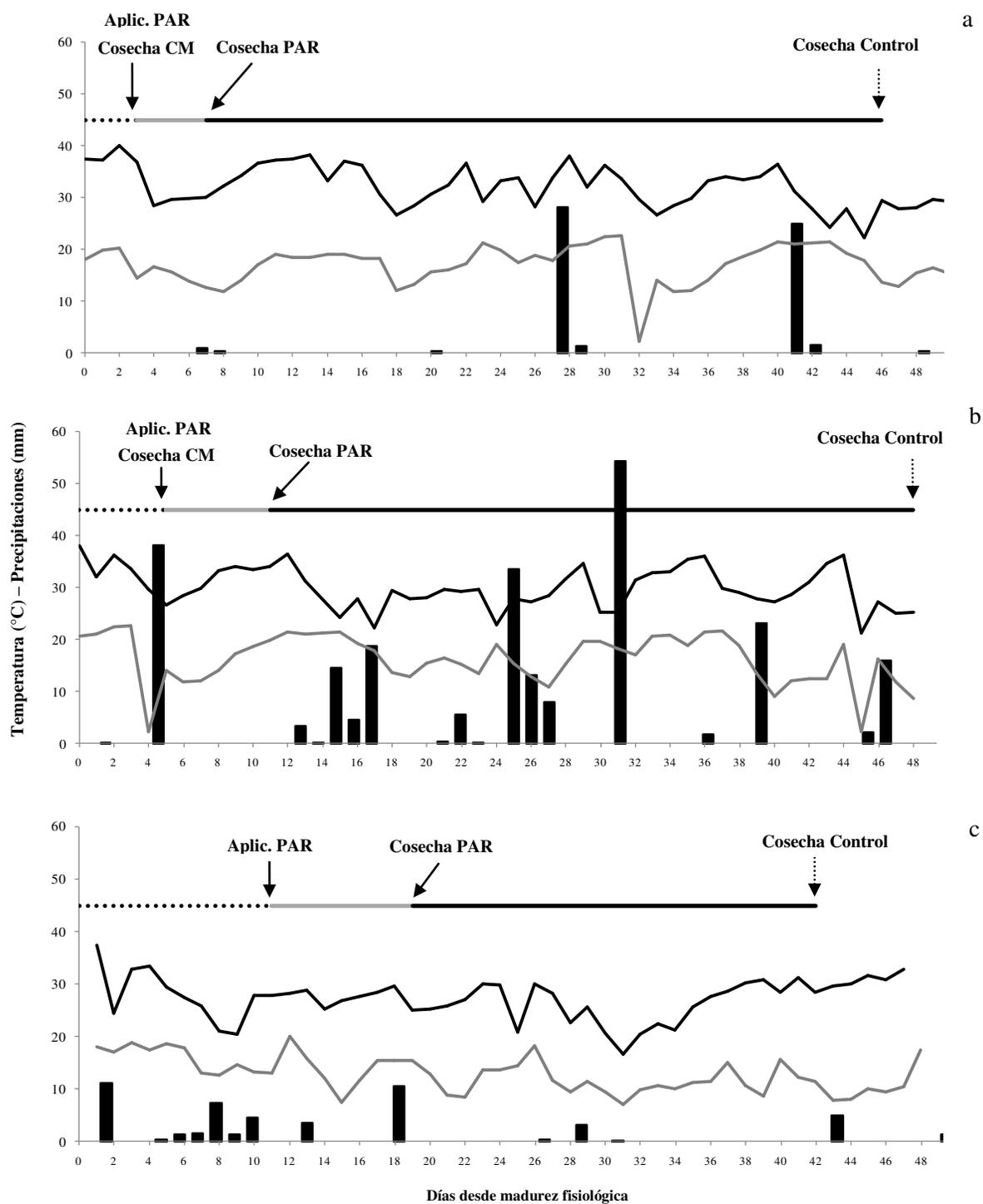


Figura 3.1. Temperaturas máximas (línea negra), mínimas (línea gris) y precipitaciones (barras) a partir de la madurez fisiológica en Venado Tuerto, experimentos 5 (a), 6 (b) y 7 (c). Las flechas indican los momentos de aplicación y cosecha del tratamiento con PAR, cosecha del tratamiento de CM y del Control. Abreviaturas: aplicación (Aplic).

### 3.2.3 Variables medidas

Empleando receptáculos de los dos surcos centrales de cada unidad experimental (superficie de 2 m<sup>2</sup>) se estimaron las siguientes variables:

*Rendimiento*: se calculó pesando las semillas de los receptáculos cosechados. Luego, considerando la densidad se expresó en kg/ha.

*Número de semillas/receptáculo*: mediante recuento manual de las semillas de 3 receptáculos por parcela

*Número de semillas/m<sup>2</sup>*: mediante el N° de semillas/receptáculo x N° receptáculos/m<sup>2</sup>.

Sobre las semillas híbridas se determinó:

*Peso de 1000 semillas (PMS)*: evaluado a partir de 8 sub muestras de 100 semillas, multiplicándolo por 10 (ISTA, 2013).

*Porcentaje del embrión*: (previa remoción manual del pericarpio) sobre 4 submuestras de 50 semillas, respecto al peso total de las semillas.

*Contenido de aceite y de ácido oleico*: determinado mediante resonancia magnética nuclear (NMR), empleando un equipo Spinlock SLK-100 (Córdoba Argentina). Ambos se expresaron en porcentaje sobre base seca (corregida por una humedad del 3 % y 25°C de temperatura).

### 3.2.4 Diseño experimental y Análisis estadístico

El diseño en cada experimento fue en parcelas divididas con 2 repeticiones. En los Exp. 5 y 6 se asignó la parcela principal a la fecha de siembra, las sub-parcelas a los tratamientos de desecado y las sub sub-parcelas a los genotipos. En el Exp. 7 se asignó a la parcela principal a los tratamientos de desecado y las sub-parcelas a los genotipos. Los datos se analizaron mediante ANDEVA y las medias se separaron mediante LSD ( $p < 0,05$ ). Previo a los análisis, los valores expresados en porcentaje fueron transformados por arcoseno (Little, 1985). Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.3.1 Rendimiento y componentes

Se detectaron diferencias mínimas en la duración del ciclo entre líneas parentales femeninas, tanto en el período siembra-R5 como en el período R5- R9 en todos los experimentos (Figura 3.2). En el Exp. 5, la desecación química con PAR permitió un avance en la cosecha de 31 días y el CM de 35 días (Figura 3.2 a). En el Exp. 6, el anticipo fue de 32 y 39 días para PAR y CM respectivamente (Figura 3.2 b). En el Exp. 7 el anticipo en la cosecha fue de 23 días para el tratamiento con PAR (Figura 3.2 c). El acortamiento en el período de cosecha evitó que las semillas de los tratamiento PAR y CM estuvieran expuestas a las fluctuaciones de las variables meteorológicas que se observan en la Figura 3.1. El tratamiento control recibió una mayor cantidad de precipitaciones en todos los experimentos (Figura 3.1).

Los tratamientos de PAR y CM no afectaron el rendimiento por unidad de superficie de las líneas parentales femeninas en ningún experimento (Tablas 3.2 y 3.3). Los efectos genotípicos fueron significativos con un mayor rendimiento de la línea femenina híbrida (IL00 x IL01), aunque no existió interacción significativa entre el genotipo y el tratamiento de desecado (Tablas 3.2 y 3.3). Estos resultados concuerdan con Lacerda *et al.* (2001), Inoue *et al.* (2003), Guimarães *et al.* (2012) y Pereira *et al.* (2015) quienes no hallaron modificaciones significativas en el rendimiento de soja.

El N° de semillas/m<sup>2</sup> y el PMS, no fue afectado por el PAR o CM, en la mayoría de los experimentos (Tablas 3.2 y 3.3). Solo se detectó un mayor PMS en el material alto oleico (IL03) del Exp. 6 (Tabla 3.2), sin embargo el peso del genotipo alto oleico (IL04) del Exp. 7 no varió en forma significativa (Tabla 3.3). Estos resultados concuerdan con Lacerda *et al.* (2001), Inoue *et al.* (2003), Guimarães *et al.* (2012) y Toledo *et al.* (2012) quienes no hallaron modificaciones significativas en el peso los granos de soja al aplicar distintos tipos de desecantes (Diquat, PAR, Glufosinato, Carfentrazone y Glifosato). Sin embargo, en girasol Pereira Da Silva (2011) halló mayor peso luego de aplicar Diquat con

30% de humedad de semillas. Mientras que Moyer (1996), Santos (2005), Pereira *et al* (2015), Mc Naughton (2015) y Zhang *et al.*, (2016) encontraron menor peso en alfalfa, soja y poroto respectivamente.

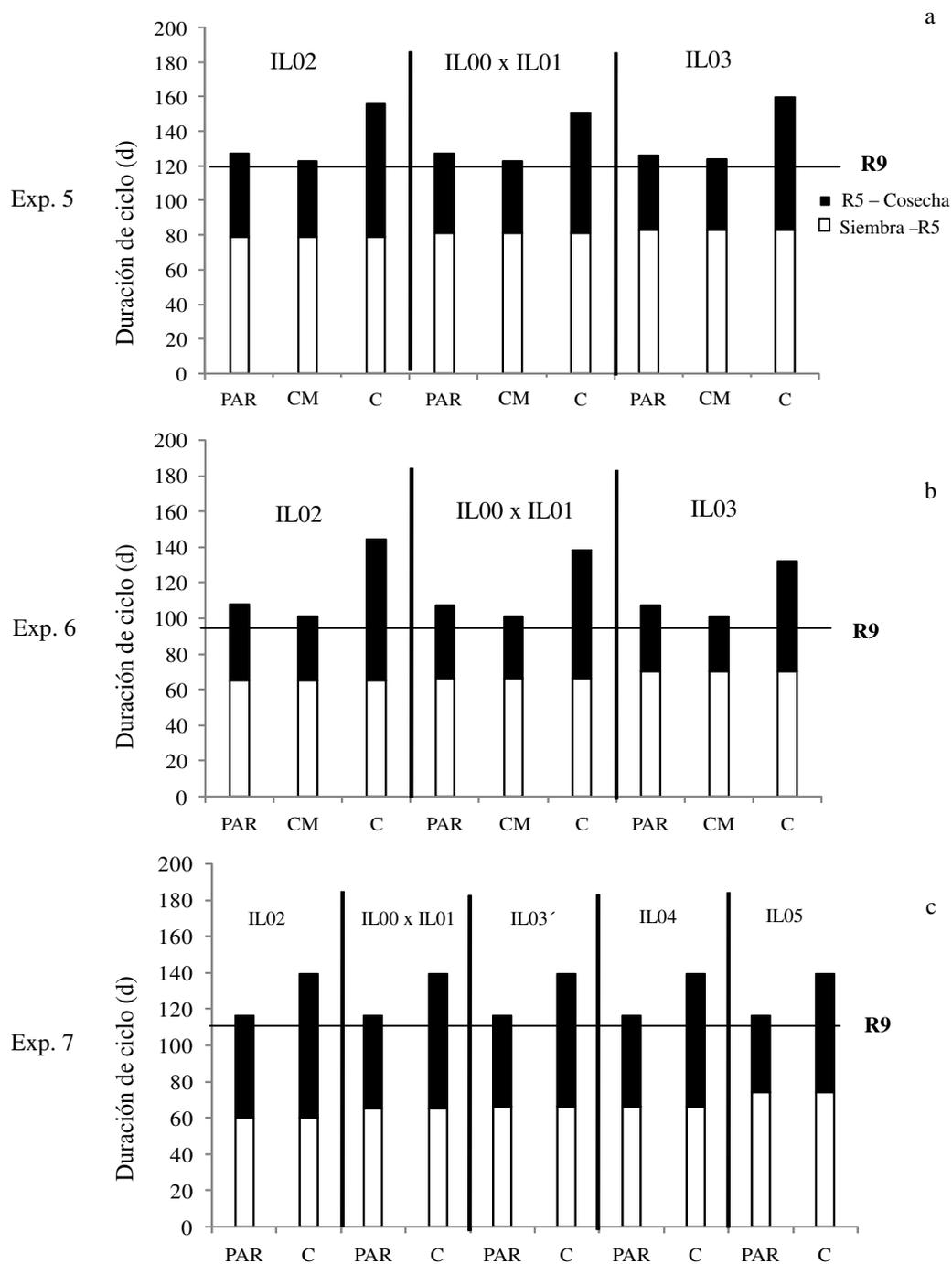


Figura 3.2 Duración de ciclo en días (d) de los períodos de siembra- R5 (barras blancas) y R5-cosecha (barras negras) en 5 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con Paraquat (PAR) y Corte Manual (CM) aplicados alrededor del 30% de humedad de semillas y las plantas control (C) en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7. Las líneas negras horizontales indican el momento de MF (R9).

Tabla 3.2. Rendimiento, número de semillas (N° de semillas/m<sup>2</sup>) y peso de 1000 semillas (PMS) de 3 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.

	Genotipo	Tratamiento	Rendimiento (kg/ha)	N° Semillas/m <sup>2</sup>	PMS (g)
Exp.5	IL02	PAR	2191 a*	3521 a	63 a
		CM	2086 a	3306 a	63 a
		Control	2600 a	4130 a	63 a
	IL00 x IL01	PAR	4636 a	4400 a	106 a
		CM	4831 a	4874 a	99 a
		Control	4037 a	4082 a	99 a
	IL03	PAR	2868 a	3666 a	79 a
		CM	2367 a	3322 a	72 a
		Control	3200 a	4523 a	72 a
Exp.6	IL02	PAR	966 a	1557 a	62 a
		CM	1352 a	2234 a	61 a
		Control	966 a	1548 a	63 a
	IL00 x IL01	PAR	3433 a	4687 a	72 a
		CM	3318 a	4998 a	67 a
		Control	3433 a	4144 a	83 a
	IL03	PAR	2236 a	4305 a	52 b
		CM	2172 a	4358 a	50 b
		Control	2236 a	3465 a	65 a
E		<0,0001	0,0098	<0,0001	
G		<0,0001	<0,0001	<0,0001	
T		0,8754	0,6234	0,0333	
E x G		0,0319	0,0001	<0,0001	
E x T		0,4951	0,0249	0,0084	
G x T		0,0776	0,3036	0,5401	
E x G x T		0,0304	0,3277	0,2496	

\* Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna, para cada experimento y genotipo. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), genotipo (G), tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Existieron efectos significativos de la interacción entre el experimento x genotipo y entre el experimento x desecante en algunas de las variables clave del rendimiento como el N° de semillas/m<sup>2</sup> y el PMS (Tabla 3.2). No se hallan estudios locales publicados que

examinen las posibles interacciones de la aplicación de desecantes con el genotipo y el ambiente en la producción de semillas híbridas de girasol. Por lo que el efecto del ambiental parece ser importante al igual que en el caso de los cultivos destinados a la producción de granos, como mencionan de la Vega y Chapman (2001).

Tabla 3.3. Rendimiento, número de semillas (N° de semillas/m<sup>2</sup>) y peso de 1000 semillas (PMS) de 5 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control, en Venado Tuerto, experimento 7.

	Genotipo	Tratamiento	Rendimiento (kg/ha)	N° Semillas/m <sup>2</sup>	PMS (g)
Exp.7	IL02	PAR	1917 a*	3340 a	57 a
		Control	2091 a	3513 a	60 a
	IL00 x IL01	PAR	4734 a	5296 a	89 a
		Control	5609 a	6296 a	89 a
	IL03´	PAR	1276 a	1858 a	69 a
		Control	1317 a	1780 a	74 a
	IL04	PAR	1347 a	1840 a	73 a
		Control	1819 a	2425 a	75 a
	IL05	PAR	2061 a	3340 a	62 a
		Control	2227 a	3664 a	62 a
	G		<0,0001	<0,0001	0,0001
	T		0,1338	0,0879	0,4318
	G x T		0,7357	0,5756	0,9369

\* Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna, para cada experimento y genotipo. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), genotipo (G), tratamiento de desecado (T) y su interacción (P< 0,05).

### 3.3.2 Porcentaje de embrión, contenido y composición del aceite

El porcentaje de embrión no se modificó con tratamientos de cosecha anticipada (PAR y CM), excepto para G2 en el Exp. 5 (Tablas 3.4 y 3.5). El contenido de aceite no fue afectado por el tratamiento con PAR en G1, G2 y G5 (Tablas 3.4 y 3.5). En el genotipo alto oleico (G3) y los Exp. 5 y 6 se observó una alta variabilidad al comparar el PAR y el control (Tabla 3.4). Dicha tendencia no se repitió en el Exp. 7 (Tabla 3.5), en el cual el genotipo alto oleico (G3´) y su respectivo iso-híbrido (G4) no mostraron variaciones significativas en el contenido de aceite entre PAR y control. En cuanto al contenido de oleico, no se observaron efectos significativos del tratamiento con PAR en los híbridos

tradicionales (G1, G2, G4 y G5) ni en los alto oleico (G3 y G3') (Tablas 3.5 y 3.5). La ausencia de cambios en la concentración de aceite y el perfil ácido coincide resultados obtenidos por Marchiori *et al.* (2002) y Esahani *et al.* (2012).

Los resultados hasta aquí obtenidos manifiestan una tendencia similar a los antecedentes hallados en genotipos comerciales de girasol por Rana *et al.* (1989), Howatt *et al.* (2009), Larson *et al.* (2008) y Stahlman *et al.* (2010), cuando los desecantes fueron aplicados por debajo del 30% de humedad de semillas (luego de MF). También coinciden con Pereira Da Silva (2011) cuando aplicó Diquat en líneas parentales femeninas con 25 y 30% de humedad de semillas. Según Stahlman *et al.* (2010), el mayor beneficio de la desecación se produce cuando esta se realiza tan pronto como sea posible después de haber alcanzado la MF (38%) sin sacrificar el rendimiento. Como han demostrado los resultados precedentes, en la producción de semillas híbridas de girasol la aplicación de PAR alrededor del 30% de humedad de semillas, asegura una cosecha lo suficientemente temprana sin riesgo de pérdidas en el rendimiento o alteraciones en la composición química. Esto se debe a que las aplicaciones posteriores a la MF no comprometen la acumulación de materia seca ni la síntesis de aceite garantizando el máximo tamaño de las semillas, tal como mencionan Daltro *et al.* (2010).

Dichas respuestas no se conocían en materiales genéticos modernos ni en las condiciones locales de producción de semillas de girasol. Esto representa un aporte relevante al conocimiento, ya que las aplicaciones alrededor del 30% de humedad de semillas, pueden recomendarse como un valor óptimo de aplicación y ayudar en la toma de decisiones en los lotes de producción de semillas.

Se detectó un mayor rendimiento de la línea femenina híbrida (IL00 x IL01) y mayores tamaños de embrión, contenido de aceite y de ácido oleico en el material alto oleico G3 (Tablas 3.4 y 3.5), expresando diferencias debidas a los efectos de la constitución genética de los materiales evaluados (Fick y Miller, 1997).

Si se comparan los tratamientos PAR y CM entre sí, no se observan diferencias significativas para ninguna de las variables analizadas (N° de semillas/m<sup>2</sup>, PMS, rendimiento, porcentaje de embrión, contenido de aceite o de oleico). Esto indica que no existieron efectos químicos adicionales del PAR que perjudiquen la producción de las semillas híbridas de girasol. Dichos resultados concuerdan con la idea de ser un producto

conveniente en la industria de semillas como se ha demostrado en cultivos de soja, poroto y colza-canola (Greven *et al.*, 2004; Daltro *et al.*, 2010; Marchiori *et al.*, 2002; Bülow y Araújo da Cruz-Silva, 2012).

Tabla 3.4. Porcentaje de embrión, contenido de aceite y de ácido oleico de 3 líneas parentales femeninas de girasol para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control en Venado Atuerto, experimentos 5 y 6.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Embrión (%)	Aceite (%)	Acido Oleico (%)
Exp. 5	G1	PAR	71 a*	42 a	51 a
		CM	72 a	42 a	48 a
		Control	70 a	41 a	50 a
	G2	PAR	77 ab	47 a	48 a
		CM	73 b	46 a	51 a
		Control	79 a	49 a	50 a
	G3	PAR	85 a	49 b	96 a
		CM	86 a	52 ab	91 a
		Control	86 a	54 a	93 a
Exp. 6	G1	PAR	66 a	40 a	55 a
		CM	66 a	40 a	55 a
		Control	66 a	39 a	56 a
	G2	PAR	69 a	48 a	48 a
		CM	71 a	47 a	47 a
		Control	75 a	46 a	46 a
	G3	PAR	81 a	53 a	91 a
		CM	78 a	52 ab	94 a
		Control	83 a	50 b	94 a
E			<0,0001	0,1350	0,2233
G			<0,0001	<0,0001	<0,0001
T			0,0141	0,7789	0,7798
E × G			0,8811	0,1061	0,0004
E × T			0,3549	0,0019	0,3771
G × T			0,0310	0,2495	0,8861
E × G × T			0,0667	0,0514	0,1027

\* Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna, para cada experimento y genotipo. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), genotipo (G), tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 3.5. Porcentaje de embrión, contenido de aceite y de ácido oleico de 5 líneas parentales femeninas de girasol para el tratamiento de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 7.

Genotipo	Tratamiento	Embrión	Aceite	Acido
		(%)	(%)	Oleico (%)
G1	PAR	66 a*	34 a	48 a
	Control	63 a	34 a	52 a
G2	PAR	73 a	46 a	44 a
	Control	70 a	46 a	46 a
G3'	PAR	71 a	35 a	89 a
	Control	69 a	35 a	88 a
Exp.7 G4	PAR	65 a	33 a	76 a
	Control	64 a	32 a	75 a
G5	PAR	68 a	37 a	55 a
	Control	66 a	37 a	56 a
G		0,1310	<0,0001	<0,0001
T		0,2683	0,8869	0,3339
G × T		0,9932	0,9777	0,4750

\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna, para cada experimento y genotipo. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), genotipo (G), tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

### 3.4 CONCLUSIONES

La desecación química con PAR, alrededor del 30% de humedad, resulta útil para la producción de semillas híbridas de girasol. Este momento de aplicación se encuentra lo suficientemente alejado de la MF como para asegurar un adecuado anticipo en la cosecha, sin comprometer el período de llenado de las semillas ni la acumulación de materia seca. Por lo que mantiene inalterado el rendimiento de las líneas parentales femeninas, el contenido y la composición acídica de las semillas híbridas.

La ausencia de efectos perjudiciales del PAR, en comparación con la cosecha anticipada sin productos químicos (CM), favorece su recomendación en la industria de semillas.

## **CAPITULO IV**

### **IMPACTO DE LA DESECACIÓN QUÍMICA SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA INICIAL DE SEMILLAS DE GIRASOL**

## 4.1 INTRODUCCIÓN

Los desecantes pueden ser aplicados en girasol cuando el contenido de humedad de las semillas fluctúa entre el 50 y el 18%, abarcando las etapas de crecimiento y maduración (Figura 1.1 Capítulo I). Durante estas etapas las semillas atraviesan procesos metabólicos y morfológicos trascendentales para alcanzar una elevada calidad fisiológica. Por lo que, la exposición a productos químicos y la modificación del ambiente en el que las semillas crecen, así como el acortamiento del período en el campo hasta la cosecha logrado mediante desecación química, pueden ejercer modificaciones en su potencial fisiológico. Estos cambios pueden producirse a partir de diversos mecanismos:

i) Mejorando la calidad, al reducir la permanencia de las semillas en el campo y la exposición a condiciones ambientales adversas. Tratamientos de desecado en semillas de soja mejoraron la germinación debido a una reducción en la exposición a las variaciones de humedad relativa y temperatura ambiente (Pereira *et al.*, 2015). Según estos autores, la permanencia de las plantas en el campo, somete a las semillas a ciclos de absorción y pérdida de agua acelerando el deterioro con el consecuente detrimento de su germinación y vigor. Similares consideraciones realizaron Kappes *et al.* (2009) en soja y Bellé *et al.* (2014) para trigo. La mejora en la calidad fisiológica de las semillas desecadas también puede asociarse a la reducción en la infección de patógenos (Marcandalli *et al.*, 2011). Sin embargo, Inoue *et al.* (2003) no hallaron diferencias en el grado de contaminación con hongos en semillas de soja tratadas con Diquat, Glufosinato de amonio, Carfentrazone, o PAR.

ii) Reduciendo la calidad, debido a los efectos fitotóxicos de las moléculas del desecante o sus metabolitos. Para Lacerda *et al.*, (2005) la existencia de residuos tóxicos y el modo de acción, también deben ser considerados al evaluar desecantes en la calidad fisiológica de las semillas. Es posible que los productos sistémicos ejerzan más daño que los de contacto debido a su mayor movilidad dentro de la planta (Daltro *et al.*, 2010). En este sentido, Pinto *et al.* (2014) mencionaron que el Glufosinato de amonio redujo la germinación y el vigor de semillas de poroto. La aplicación de Glifosato como desecante en

soja, generó efectos fitotóxicos que se evidenciaron principalmente a través de deformaciones en plántulas y disminuciones en el crecimiento de las raíces (Daltro *et al.*, 2010; Marcandalli *et al.*, 2011). Toledo *et al.* (2012) y Albrecht *et al.* (2012) indican que el Glifosato puede ser absorbido directamente a través de las vainas de soja. Su posterior degradación y formación de metabolitos secundarios, como el ácido aminometilfosfónico (AMPA), desencadena disturbios en la fisiología de las semillas que llevan a la generación de plántulas anormales, con la consecuente reducción en la germinación y el vigor. La presencia de AMPA fue detectada en tanto en semillas de soja (Duke, 2003) como en arveja, lenteja y lino (Cessna, 2002). El daño producido por las moléculas del desecante en los tejidos de las semillas puede también promover el desarrollo de hongos con el consiguiente deterioro de las mismas, a través de infecciones primarias o secundarias (Toledo *et al.*, 2012). Sin embargo, Albrecht *et al.* (2012) no detectaron diferencias en la incidencia de hongos, atribuyendo los efectos deletéreos solo a los efectos fitotóxicos del Glifosato.

El efecto fitotóxico del PAR ocurre cuando sus moléculas desvían electrones del Fotosistema I, produciendo radicales libres (superóxido y peróxido de hidrógeno) a través de una reacción en cadena. Esta reacción destruye los tejidos mediante la oxidación de las membranas plasmáticas y la peroxidación de lípidos (Chaneva y Petrova 2014). La disrupción en las membranas plasmáticas reduce el control de la permeabilidad y la compartimentalización celular, produciendo alteraciones del metabolismo celular e ineficiencia en los mecanismos de reparación y síntesis (Bellé *et al.*, 2014). Esta serie de eventos puede afectar directamente la calidad de las semillas (MC Donald, 1999). Bellé *et al.* (2014) hallaron que la germinación y vigor de semillas de trigo disminuía luego de la desecación con PAR. Sin embargo, Marichori Jr *et al.* (2002) observaron que el PAR no afectó la permeabilidad de las membranas en semillas de colza. En este sentido, Lacerda *et al.* (2005) y Daltro *et al.* (2010) en semillas de soja y Pinto *et al.* (2014) en poroto, no hallaron modificaciones en la germinación ni el vigor luego de la desecación con PAR. En poroto, Kappes *et al.* (2012) encontraron que la germinación no se afectaba por el tratamiento con PAR, aunque las semillas evidenciaron reducciones en el vigor. Resultados discrepantes, con aumentos en la calidad de semillas en lotes de soja desecados con PAR, también fueron hallados por Kappes *et al.* (2009) y Guimarães *et al.* (2012).

iii) Modificando la calidad, a través de la alteración en la absorción de agua y removilización de reservas durante la germinación. El desecado con Glufosinato redujo la movilización de proteínas y azúcares solubles afectando la germinación y el vigor de las plántulas en una variedad de soja. Otra de las variedades contrarrestó este efecto, manteniendo el vigor, gracias a un cambio en el patrón de absorción de agua y una prolongación la fase II de germinación. Esto permitió un mayor tiempo de re-organización celular y de reservas. Lo mencionado demuestra la existencia de diferencias genéticas en la sensibilidad al desecado en variedades de soja (Delgado *et al.*, 2015). Por otra parte, Durnev y Yatchuk (2013) hallaron cambios en el contenido proteico y ácido en semillas de soja sometidas a tratamientos con Diquat que se tradujeron en aumentos en los niveles de germinación y vigor. También se indican casos en los que no existieron variaciones en la calidad de las semillas al aplicar distintos tipos de desecantes (Diquat, Glufosinato de amonio, Carfentrazone o PAR.) en cultivos de poroto y soja (Domingos *et al.*, 2000; Nakashima *et al.*, 2000; Parreira *et al.*, 2015).

La literatura científica refleja pocos antecedentes sobre el efecto del desecado en la calidad de las semillas híbridas de girasol. De acuerdo con Liović *et al.* (2008) y Pereira Da Silva (2011), la desecación química podría incrementar la germinación de las semillas. Sin embargo, Howatt *et al.* (2009) hallaron reducciones en la germinación, dependiendo del contenido de humedad de semillas con el cual se aplican los desecantes. Por otra parte ninguno de estos autores hace mención a los efectos en la dormición de esta especie.

Se sospecha que la cosecha anticipada podría incrementar la dormición de las semillas de girasol (Crnobarac, 1987). Por esta razón, es importante evaluar las posibles consecuencias de la desecación química sobre la dormición en girasol. En esta especie, el impedimento para germinar inmediatamente después de la cosecha, está asociado con procesos hormonales y también es impuesto por el pericarpio y la cubierta seminal (Le Page-Degivry y Garello, 1992; Andrade *et al.*, 2015). Este último tipo de dormición parece ser más importante en genotipos silvestres que en híbridos comerciales (Brunick, 2007; Presotto *et al.*, 2014).

El embrión de girasol se encuentra rodeado de una cubierta seminal, conformada por tres estratos celulares (dos externos de parénquima y uno intermedio de tejido esponjoso). Esta cubierta se adhiere íntimamente al endosperma, constituido por una capa simple de células de aleurona o células endospermáticas (Seiler, 1997). Los mecanismos a través de los cuales estas estructuras imponen la dormición son complejos y existe interacción con su naturaleza química y dinámica de pérdida de agua. Algunas de las estructuras que conforman la cubierta seminal (capa lipídica) limitan la difusión de oxígeno al embrión (Rolletschek *et al.*, 2007). Otras características de las cubiertas del fruto de girasol (sutura apical del pericarpio y su distancia con respecto a la radícula) también podrían dificultar el intercambio de gases y agua, influenciando la dormición (Weiss *et al.*, 2013).

Los desecantes pueden intervenir en la dinámica de deshidratación del fruto o bien ejercer algún cambio en el metabolismo del oxígeno o intercambio de gases, dada su gran capacidad de oxidación (Chaneva y Petrova, 2014). En Argentina existe experiencia del uso de PAR para disminuir el daño por enfermedades fúngicas mediante la desecación anticipada (Pedraza *et al.*, 2001). Si bien es una práctica habitual en los lotes de producción de semillas de girasol (Rentería Com. Pers.), se desconocen los efectos sobre la calidad fisiológica. La influencia de los desecantes sobre la dormición, germinación y el vigor de las semillas híbridas de girasoles es un área del conocimiento escasamente evaluada, que requiere profundización bajo las condiciones de producción de Argentina.

Siguiendo la secuencia temporal de procesos que ocurren en las semillas de girasol durante su crecimiento y maduración, los objetivos e hipótesis del presente capítulo fueron:

**Objetivo 4.1:** Evaluar el efecto del desecado con PAR en el nivel de dormición de las semillas de girasol, con énfasis en la contribución realizada por parte del pericarpio y la cubierta seminal.

**Hipótesis 4.1:** La aplicación de PAR promueve una deshidratación más rápida de los tejidos del pericarpio y la cubierta seminal lo que se traduce en cambios en los niveles de dormición de las semillas de girasol.

**Objetivo 4.2:** Analizar el impacto del desecado con PAR sobre la calidad fisiológica inicial de las semillas de girasol con diferente constitución genética.

**Hipótesis 4.2:** Debido a su elevada toxicidad, el PAR puede ingresar en las semillas de girasol y reducir su calidad fisiológica inicial, ejerciendo similar daño en todas las líneas parentales femeninas.

## 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.2.1 Material vegetal

Las semillas evaluadas se obtuvieron de los Exp. 5, 6 y 7 descritos en el Capítulo III. Inmediatamente luego de haber sido cosechadas, las semillas fueron almacenadas en bolsas de papel a temperatura ambiente (25°C) y 50-80 % de humedad relativa hasta ser analizadas, un mes después de las respectivas cosechas (ver Figura 3.2, Capítulo III), manteniendo la identidad por tratamiento de desecado (PAR, CM y Control).

### 4.2.2 Variables medidas

La evaluación de la calidad fisiológica se realizó en muestras de 50 semillas (n=4) mediante las siguientes pruebas:

*Viabilidad:* evaluada mediante el test topográfico con Tetrazolio, en semillas sin pericarpio y sin cubierta seminal (SpSc) embebidas en solución 2 cloruro de 2, 3, 5 – trifeniltetrazolio (0,5% p/v) a 25°C durante 4 h. Las semillas se categorizaron como viables y no viables según los criterios propuestos por ISTA (2010) para esta especie.

*Dormición:* las semillas intactas fueron colocadas en la cámara de germinación a 25°C, sin pre-tratamiento para romper dormición. Debido a que la viabilidad fue superior al 99% en todos los genotipos y tratamientos, el porcentaje de dormición fue calculado considerando como dormidas a las semillas frescas. Según ISTA (2010) las semillas son frescas cuando no germinan al 10° día desde la siembra pero permanecen limpias y con tejidos firmes. Esta variable se expresó en porcentaje.

*Tratamientos de ruptura de la dormición:*

- (i) Pre-enfriado por 48 h a 5°C entre sustrato papel saturado en agua (ISTA, 2010).
- (ii) Pre-humedecimiento, mediante inmersión en agua a 10°C durante 24 h (adaptado de Maiti et al., 2006).
- (iii) Ethrel, mediante inmersión en solución de Ethrel al 2% (v/v) y secado a temperatura ambiente por 48 h.
- (iv) Remoción manual del pericarpio (Sp) luego de 18 h. de remojo, empleando un bisturí.
- (v) Remoción del pericarpio y la cubierta seminal (SpSc), del mismo modo que el tratamiento Sp, pero removiendo también la cubierta seminal.

*Germinación:* luego de la aplicación de los tratamientos para romper dormición, las semillas fueron incubadas entre sustrato papel a 25°C con 12 h. luz/ 12 h. oscuridad (ISTA, 2010). El porcentaje de germinación se calculó en base a la cantidad de semillas que originaron plántulas normales al 10° día desde el comienzo del test, según el *Handbook on Seedling Evaluation* (ISTA, 2006).

*Vigor:* evaluado mediante los siguientes test:

- i) Conductividad Eléctrica: Se colocaron semillas sin pericarpio (Sp), previamente pesadas, en 75 ml de agua destilada a 25°C durante 24 h. La Conductividad Eléctrica se midió con un conductímetro Orion (Orion 120, Boston, USA) y fue expresada en  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , según Braz *et al.* (2008). Este test es utilizado para medir el deterioro de

las membranas plasmáticas celulares. Cuánto más deterioradas se encuentra una semilla, menor es la capacidad de reparación de sus membranas y mayor la cantidad de solutos liberados al ambiente durante la imbibición (Marchos-Filho *et al.*, 2015). Por lo que, altos niveles de electrolitos liberados al medio (y mayores valores de Conductividad Eléctrica) implican menor vigor de las semillas (ISTA, 2010). Rangos de vigor medidos con esta metodología se han identificado recientemente en girasol (Szemruch *et al.*, 2015; ver Figura 6.1. en el capítulo VI).

- ii) Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto): fue realizado mediante el test topográfico Tetrazolio, utilizando una ligera adaptación a la metodología propuesta por ISTA (2010) para girasol. Semillas SpSc fueron embebidas en solución 2 cloruro de 2, 3, 5 – trifeniltetrazolio (0,5% w/v) a 25°C durante 4 h. Las semillas “viables sin defectos” fueron clasificadas como de “vigor alto” de acuerdo con la adaptación para soja de Gallo *et al.* (2012) y expresadas en porcentaje.
- iii) Envejecimiento acelerado (EA): se realizó colocando a semillas intactas en un ambiente saturado al 100 % con agua y 42 °C de temperatura, durante 72 h, según la metodología descrita por Peretti (1994). Transcurrido este tiempo las semillas se colocaron en condiciones estándar de germinación (ISTA, 2010). Se computó el número de semillas capaces de generar plántulas normales según el *Handbook on Seedling Evaluation* (ISTA, 2006), expresándolas en porcentaje.
- iv) Peso seco de plántulas (PSPL): para esta variable se seleccionaron al azar 5 plántulas normales de cada repetición del ensayo de germinación con Pre-enfriado en el 10° día desde el inicio del test. Luego se colocaron en estufa a 60°C hasta peso constante. Una vez secas se pesaron nuevamente en balanza analítica, expresando lo resultados en gramos por plántula (Farooq *et al.*, 2009).
- v) Velocidad de emergencia de plántulas: se determinó mediante el índice (IVE) propuesto por Maguire (1962) dónde:  $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$ , siendo IVE = índice de velocidad de emergencia; E1, E2, ... En = número de plántulas emergidas en el primer, segundo día..... último día En; N1, N2,... Nn = número de días desde la siembra desde el primero, segundo y último día de recuento. Este índice se calculó a partir del ensayo de Pre-humedecimiento frío.

*Anatomía de la semilla:* Con el objetivo de identificar diferencias en los niveles de dormición impuesta por las coberturas, se analizó detalladamente la estructura anatómica de semillas enteras por un lado y del pericarpio y cubierta seminal en forma separada por el otro. Se estudiaron solamente los tratamientos Control y PAR, ya que fueron los más contrastantes en nivel de dormición. Los tejidos fueron inicialmente fijados en solución FAA. Luego de ello fueron embebidos en parafina y cortados en secciones transversales de 10-15  $\mu\text{m}$  con un micrótomo tipo Minot-type rotary. La tinción se realizó con safranina-*fast green* según Johansen (1940). Las fotografías fueron hechas utilizando un microscopio óptico Zeiss Axioplan y las imágenes digitales analizadas con el software Image Tool 3.0 (Wilcox *et al.*, 2002). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Anatomía Vegetal (FAUBA) bajo la supervisión de la Ing. Agr. Anita Mantese.

Las variables anatómicas evaluadas en el pericarpio fueron: espesor epidermis + hipodermis (epi+hypo); espesor del esclerénquima (escl); número de capas del esclerénquima; espesor máximo de la pared celular del esclerénquima. Mientras que para la cubierta seminal fueron: largo de las células; ancho de las células; espesor pared celular externa (pce); espesor pared celular interna (pci). Todas ellas fueron determinadas en 6 repeticiones (semillas) extraídas de cada tratamiento y expresadas en micrones ( $\mu\text{m}$ ).

*Efectos del ambiente en la calidad de semillas:* Para ampliar el análisis e incorporar una mayor cantidad de ambientes, el efecto de las variables meteorológicas en la calidad de las semillas se realizó sobre un set de datos que incluyó los siguientes materiales y experimentos (ambientes):

- a) IL02, valuado en los Exp.1, 2, 3, 4 y 5.
- b) IL00 x IL01, evaluado en los Exp.1, 2 y 3.

Para estos experimentos se efectuó un análisis de regresión lineal entre las precipitaciones, humedad relativa, temperatura media, temperatura máxima y radiación del período R9- respectivas cosechas y las variables de calidad de semillas (germinación y vigor). En los Exp.1 y 2, los datos meteorológicos fueron obtenidos a partir de una estación automática (Pegasus EP2000, Columbia Weather Systems, Hillsboro, OR) ubicada en el

campo experimental del semillero Pannar S.A., mientras que en los Exp.3 y 4 se obtuvieron a partir del registro de Servicio Meteorológico Nacional (SMN).

Siguiendo la secuencia de eventos que ocurren durante el crecimiento y maduración de las semillas de girasol, se presentan los resultados relacionados con el nivel de dormición que alcanzaron las semillas desecadas, luego se abordan diferentes formas de romper la dormición y a continuación se analizan los efectos sobre la germinación y vigor, medidos en semillas despiertas mediante los test apropiados.

#### **4.2.3 Diseño experimental y análisis estadístico**

El diseño de los experimentos 1 a 5 se detalló en los capítulos II y III. Las variables se analizaron mediante ANDEVA y LSD ( $p < 0,05$ ). Previo a los análisis, los valores expresados en porcentaje fueron transformados por arcoseno (Little, 1985). Se realizó un análisis de componentes principales (PCA - biplot) entre la dormición y las variables anatómicas del pericarpio y la cubierta seminal. Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

### **4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.3.1 Efectos del desecado en la dormición.**

En el Exp.5, la viabilidad y dormición de las semillas con PAR o CM fue mayor que la de los controles, en todos los genotipos (Tabla 4.1). Un comportamiento similar también se observó en el Exp. 6 (Tabla 4.1), aunque con mayor variabilidad en el grado de dormición (84-100 %) y sin diferencias significativas en la viabilidad entre los tratamientos (PAR, CM y Control).

Los niveles de dormición también fueron significativamente mayores con desecado químico en el Exp.7, oscilando en el rango de 86 a 100 %, dependiendo del genotipo (Tabla 4.2). La desecación con PAR o CM adelantó la cosecha entre 35 a 45 días respecto al control, acortando el proceso natural de maduración de las semillas. Debido a que en girasol, la dormición es gradualmente reducida en el período de maduración (tiempo

después de madurez fisiológica) (Bianco *et al.*, 1994; Bazin *et al.*, 2011) se presume que el acortamiento de este período, a causa del desecado, provoca los aumentos los niveles de dormición.

Tabla 4.1. Dormición y viabilidad para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Dormición (%)	Viabilidad (%)
5	G1	PAR	91 a*	100 a
		CM	86 a	100 a
		Control	13 b	98 b
	G2	PAR	69 a	100 a
		CM	59 a	100 a
		Control	6 b	90 b
	G3	PAR	84 a	100 a
		CM	79 a	100 a
		Control	8 b	93 b
6	G1	PAR	100 a	98 a
		CM	96 a	99 a
		Control	14 b	99 a
	G2	PAR	87 a	94 a
		CM	84 a	95 a
		Control	6 b	95 a
	G3	PAR	100 a	98 a
		CM	98 a	97 a
		Control	4 b	94 a
E		<0,0001	0,0111	
G		0,0001	0,0005	
T		<0,0001	<0,0001	
E × G		0,7454	0,5174	
E × T		0,0005	0,0004	
G × T		0,0343	0,0565	
E × G × T		0,1335	0,0994	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.2. Dormición y viabilidad para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Dormición (%)	Viabilidad (%)
7	G1	PAR	86 a*	100 a
		Control	35 b	95 a
	G2	PAR	90 a	100 a
		Control	23 b	93 b
	G3'	PAR	98 a	100 a
		Control	26 b	94 b
	G4	PAR	100 a	97 a
		Control	40 b	96 a
	G5	PAR	95 a	99 a
		Control	16 b	95 a
G		<0,0007	0,4550	
T		<0,0001	<0,0001	
G × T		0,0081	0,0627	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Se muestran valores del test de ANDEVA para el genotipo (G) y el tratamiento de desecado (T) y su interacción ( $P < 0,05$ ).

El pre-enfriado, pre-humedecimiento o ethrel, no resultaron eficaces para eliminar completamente la dormición (Tabla 1 del anexo). Solamente la remoción conjunta del pericarpio y la cubierta seminal (SpSc) produjo elevada proporción de plántulas normales, incluso mayor que el método de remoción de pericarpio solamente (Sp) (Tablas 4.5 y 4.6). Las diferencias entre el método SpSc y Sp sugieren una alta influencia de la cubierta seminal sobre los niveles de dormición para los genotipos evaluados, como ha sido señalado por Brunick *et al.* (2007).

En cortes transversales de las semillas enteras (cipselas) se identificaron el pericarpio, la cubierta seminal, el estrato de células endopermáticas (endosperma) y el embrión para cada uno de los genotipos evaluados (Figura 4.1).

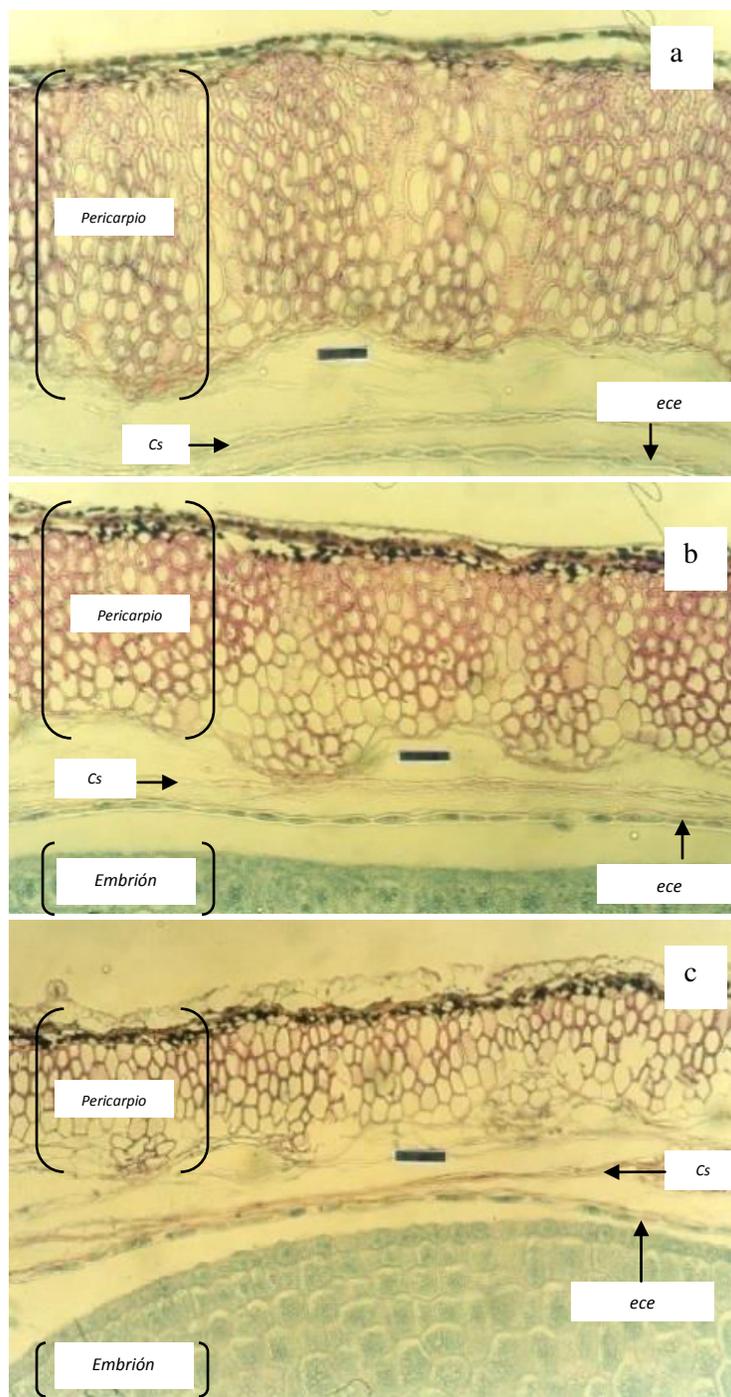


Figura 4.1. Fotografías de la estructura anatómica de las semillas de girasol (secciones transversales) de los genotipos G1 (a), G2 (b) y G3 (c) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 45 μm. Abreviaturas: cubierta seminal (Cs); estrato de células endospermáticas (ece).

También se identificaron los estratos constitutivos del pericarpio (Figura 4.2), la epidermis + hipodermis (epi + hypo) y el esclerénquima (escl). Si bien hubo diferencias entre los tratamientos de PAR y control en el espesor de la epi+hypo y en el espesor del escl (Tabla 2 del anexo), ninguna de estas variables mostró asociación con respecto al nivel de dormición de las semillas desecadas (Figura 4.3).

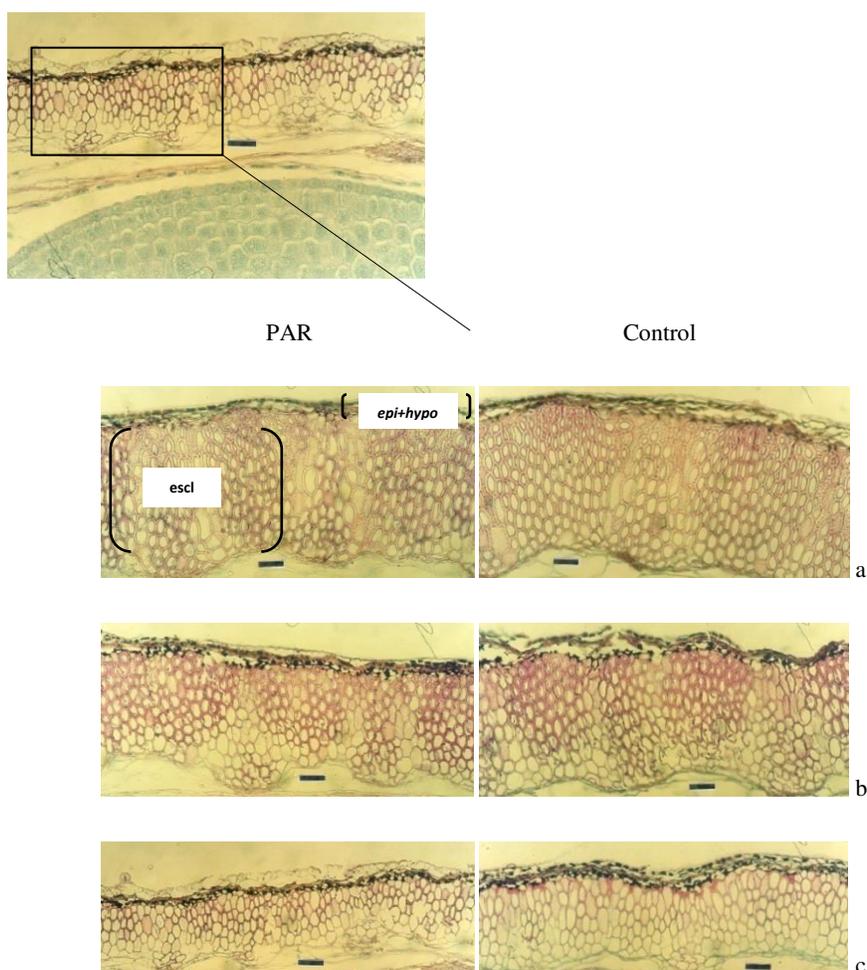


Figura 4.2. Fotografías de las secciones transversales del pericarpio de los genotipos G1 (a), G2 (b) y G3 (c) para los tratamientos de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 45  $\mu\text{m}$ . Abreviaturas: epidermis más hipodermis (epi+hypo); esclerénquima (escl).

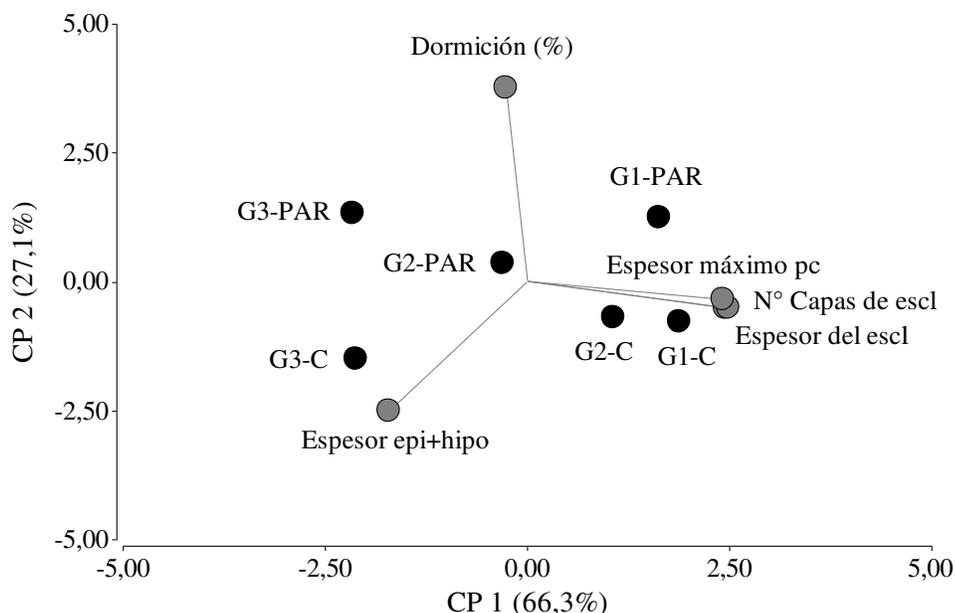


Figura 4.3. Análisis de Componentes principales (Biplot) entre la dormición (%) y las características anatómicas del pericarpio en los genotipos G1 a G3 para los tratamientos de desecado con PAR y Control (C) en Venado Tuerto, experimento 5. Abreviaturas: pc = pared celular; escl = esclerénquima; epi+hipo = (epidermis + hipodermis).

La ausencia de asociaciones entre las características anatómicas del pericarpio y los niveles de dormición de las semillas de girasol difiere de lo observado por Andrade *et al.* (2015) y Vigliocco *et al.* (2017). Estos autores destacan el rol del pericarpio en la imposición de la dormición de las líneas B123 y A-3 de girasol, asociada al incremento en el espesor de la pared celular de las células esclerénquimáticas, entre otras características.

Los cortes transversales de las semillas enteras no permitieron identificar con claridad los tejidos que constituían la cubierta seminal y se extraían en el método (SpSc). Esto impedía saber efectivamente qué estructuras tenían influencia en la dormición de las semillas de girasol desecadas. Por tal razón se realizaron preparados histológicos de la cubierta seminal específicamente (membrana transparente detallada en la Figura 1.1 b, Capítulo I). Estos permitieron identificar dos estratos en los genotipos evaluados: i) un estrato de externo de células muertas o “cubierta seminal propiamente dicha”, con haces vasculares intercalados y ii) un estrato interno de células endospermáticas vivas o

endosperma (Figura 4.4). De modo que las estructuras que se extrajeron en el método correspondían tanto a la cubierta seminal propiamente dicha como al endosperma (capa de células endospermáticas).

La estructura de la cubierta seminal de los genotipos evaluados resultó similar a la descrita en *Arabidopsis* por Debeaujon *et al.* (2000), la cual también se compone de un estrato externo de tejido muerto (testa) adherido a una capa simple de tejido endospermático vivo que rodea al embrión. En girasol la existencia del endosperma coincide con lo descrito por (Seiler, 1997), sin embargo Andrade *et al.* (2015) y Vigliocco *et al.* (2017) no observaron la existencia de dicho tejido en cortes transversales de frutos de girasol.

En todos los genotipos evaluados se observó que la estructura del estrato de células endospermáticas había sufrido modificaciones debido a la aplicación del desecante químico (Tabla 4.3). El PAR incrementó el espesor de la pared celular externa (pce) de sus células un 35% con respecto al control (Tabla 4.3; Figura 4.5).

Tabla 4.3. Estructura del estrato de células endospermáticas de los genotipos G1, G2 y G3 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Venado Tuerto, experimento 5.

Estrato de células endospermáticas					
		Largo de las células (um)	Ancho de las células (um)	Espesor pared celular cara externa (um)	Espesor pared celular cara interna (um)
G1	PAR	22 a*	5 a	2,3 a	2,3 a
	Control	19 a	5 a	1,8 b	2,1 a
G2	PAR	21 b	5 a	2,4 a	1,4 b
	Control	23 a	4 a	1,9 b	1,9 a
G3	PAR	21 b	6 b	2,6 a	1,4 a
	Control	26 a	8 a	1,7 b	1,0 b
G		0,0392	<0,0001	0,7561	<0,0001
T		0,1934	0,0967	<0,0001	>0,9999
G x E		0,0011	0,0018	0,0427	0,0002

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Se muestran valores del test de ANDEVA para el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y su interacción ( $P < 0,05$ ).

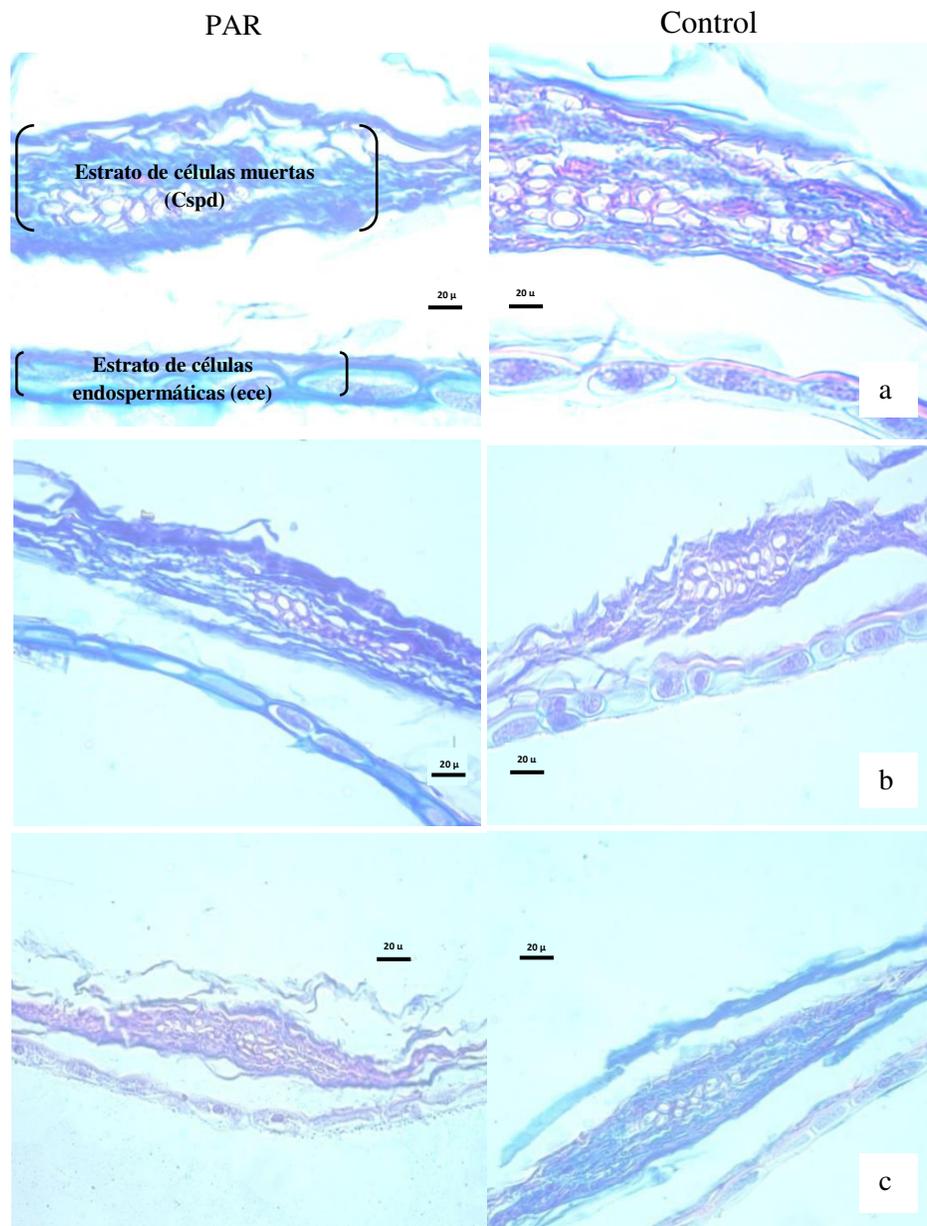


Figura 4.4. Fotografías de las secciones transversales de la cubierta seminal propiamente dicha (Cspd) o estrato de células muertas y del estrato de células endospermáticas (ece) de los genotipos G1 (a), G2 (b) y G3 (c) para los tratamientos de desecado con PAR y Control en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras negras muestran 20 μm.

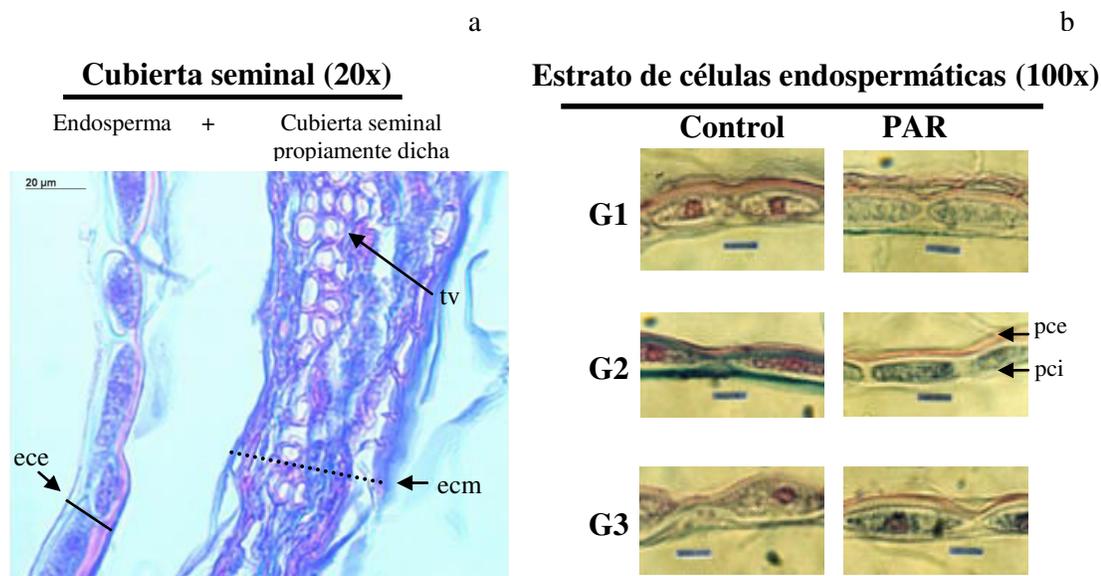


Figura 4.5. Características anatómicas de la cubierta seminal y del endosperma de los genotipos G1, G2 y G3 para los tratamientos de desecado en Venado Tuerto, experimento 5. Detalle de las semillas pertenecientes al Control de G1 incluyendo un estrato de células endospermáticas (ece) adyacentes al embrión y la cubierta seminal propriadamente dicha conformada por el estrato de células muertas (ecm) y tejido vascular (tv) adyacentes al pericarpio. Barras: 20  $\mu\text{m}$ , (a). Detalle del estrato de células endospermáticas en tratamientos de desecado PAR y Control con diferentes espesores de la pared celular interna (pci) y de la pared celular externa (pce). Barras: 7  $\mu\text{m}$ , (b).

El aumento en el espesor de la pce de las células endospermáticas se asoció con el incremento en la dormición de las semillas desecadas (Figura 4.6). Así en los genotipos evaluados, el aumento en el espesor de la pce de las células endospermáticas explicó las diferencias en los niveles de dormición entre las semillas desecadas y el control. No existió asociación entre la dormición y el resto de las variables medidas en el estrato de células endospermáticas (Figura 4.6).

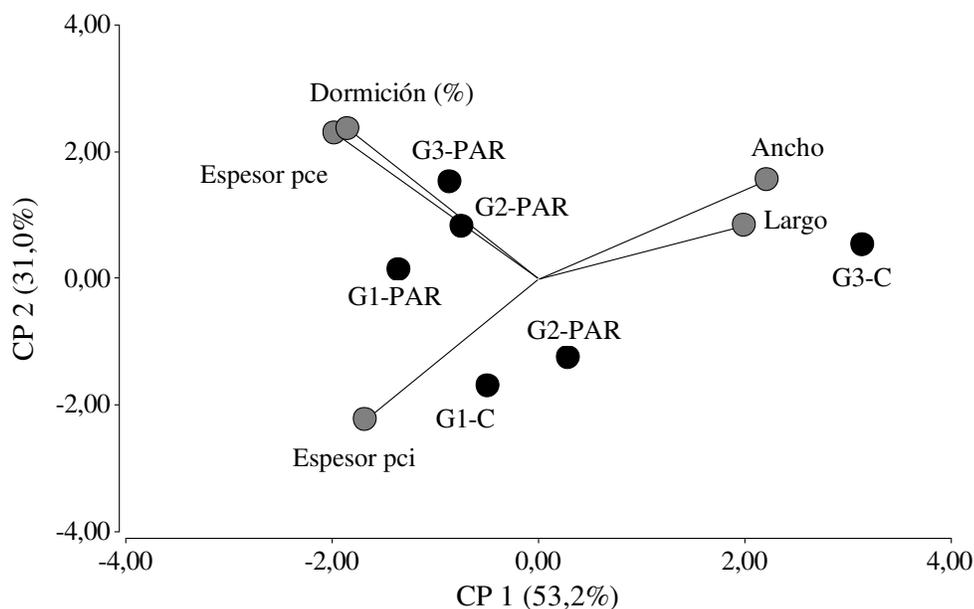


Figura 4.6. Análisis de Componentes principales (Biplot) entre la dormición (%) y las características anatómicas de la capa de células endospermáticas en los genotipos G1 a G3 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control (C) en Venado Tuerto, experimento 5. Abreviaturas: pci= pared celular interna; pce=pared celular externa.

Los cambios de humedad del ambiente pueden ocasionar modificaciones importantes en las propiedades y dimensiones de las fibras de celulosa (constituyentes principales de la pared celular), variando su permeabilidad y solubilidad al agua (Baley *et al.*, 2005; John y Anandjiwala, 2008; Zhu *et al.*, 2013). La dinámica de cosecha en el Exp. 5 hizo que las semillas del tratamiento con PAR fueran cosechadas 35 días antes que el control con mayor porcentaje de humedad (15 % superior en promedio para los tres híbridos, ver capítulo III) y luego acondicionadas en una secadora de aire forzado. La cosecha anticipada del tratamiento con PAR pudo haber interrumpido el proceso natural de deshidratación de la pared celular del endosperma, haciendo que su humedad sea temporalmente mayor. Esta mayor humedad sería responsable del aumento en el espesor de su pared celular y del incremento en los niveles de dormición de las semillas de girasol desecadas. De modo que el principio activo en sí mismo, no ejerce efectos sobre la dormición, sino a través del anticipo en la cosecha que se halla asociado con su aplicación.

Los cambios en la anatomía de la capa de células endospermáticas, provocados por la cosecha anticipada, son aportes originales del presente estudio. Cambios en la estructura de la pared celular debidos a diferencias en la humedad de las semillas han sido observados en otros cultivos de grano (Rodríguez-Penagos y Black, 1994; Toole *et al.*, 2010; Woodenberg *et al.*, 2014) y deberían ser confirmados para girasol con experimentos que analicen los cambios en la anatomía de la pared celular cuando se aplican tratamientos de hidratación y deshidratación. También es posible que las variaciones en el espesor de la pared celular se relacionen con mecanismos de acción enzimática (Su *et al.*, 2016). El mayor nivel de dormición en las semillas desecadas no ocasionaría inconvenientes en las siembras de estación posteriores, ya que a los cinco meses desde la cosecha la dormición era similar al de las semillas control (Ver Capitulo V, Figuras 5.1 a 5.3).

### **4.3.2 Efectos del desecado en la germinación y el vigor**

#### ***4.3.2.1 Germinación***

Los resultados obtenidos con el método más efectivo para romper dormición, que fue la eliminación manual del pericarpio y la cubierta seminal (SpSc), pusieron de manifiesto efectos significativos del experimento (E), genotipo (G) y tratamiento de desecado (T), como así también de las interacciones  $E \times T$ ,  $G \times T$ ,  $E \times G \times T$  en la germinación de las semillas de girasol (Tablas 4.4 y 4.5). PAR y CM tuvieron niveles de germinación superiores al control. Estas diferencias fueron significativas en 5 genotipos y 3 experimentos (Tablas 4.4 y 4.5).

Tabla 4.4. Germinación luego de la remoción del pericarpio (Sp) y remoción del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) para los tratamientos de desecado con PAR, CM y el Control, de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Germinación (%)	
			Sp	SpSc
5	G1	PAR	84 A*	92 Ab
		CM	78 B	100 Aa
		Control	85 A	85 ABc
	G2	PAR	79 B	92 Ba
		CM	74 B	94 Aa
		Control	57 C	89 Aa
	G3	PAR	18 BC	88 Aa
		CM	28 B	78 Aab
		Control	72 A	69 Ab
6	G1	PAR	88 AB	90 Aa
		CM	87 AB	89 Aa
		Control	87 A	87 Aa
	G2	PAR	73 C	93 Aa
		CM	73 B	92 Aa
		Control	68 B	83 Ab
	G3	PAR	22 C	79 Aa
		CM	31 B	79 Aa
		Control	49 B	73 Ab
E			0,0030	
G			<0,0001	
T			<0,0001	
E × G			0,3149	
E × T			0,0013	
G × T			0,0006	
E × G × T			<0,0001	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna y mayúsculas entre tratamientos para romper dormición dentro de cada fila. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.5. Germinación luego de la remoción del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Germinación SpSc (%)
7	G1	PAR	91 a*
		Control	86 a
	G2	PAR	98 a
		Control	90 b
	G3´	PAR	89 a
		Control	85 a
	G4	PAR	93 a
		Control	82 b
	G5	PAR	96 a
		Control	89 b
G		<0,0001	
T		<0,0001	
G × T		0,0240	

\*Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado. Se muestran valores del test de ANDEVA para el genotipo (G) y el tratamiento de desecado (T) y su interacción ( $P < 0,05$ ).

Del mismo modo Kappes *et al.* (2009) y Guimarães *et al.* (2012) hallaron que la germinación en semillas de soja era mayor luego de ser tratadas con PAR. Con respecto a las diferencias genéticas, las semillas de los genotipos alto oleico (G3 y G3´) mostraron niveles de germinación (SpSc) significativamente menores en la mayoría de los experimentos. Mientras que no se observaron diferencias importantes atribuidas al tipo de cruzamiento (G1, G3, G3´, G5 vs. G2) (Tablas 4.4 y 4.5).

#### 4.3.2.2 Vigor

Los test de vigor basados en el proceso de germinación, como el envejecimiento acelerado y la emergencia de plántulas, tienen una aplicación limitada cuando las especies tienen elevada dormición (Silva *et al.*, 2013). Dado que en los Exp. 5, 6 y 7, las semillas de girasol desecadas exhibieron altos grados de dormición, solo analizaremos los resultados de aquellos test de vigor cuya interpretación no se vió afectada por el nivel de dormición, como el test de Conductividad Eléctrica y el test de Tetrazolio. Los resultados del resto de los test pueden observarse en la Tabla 3 del anexo.

La Conductividad Eléctrica osciló en valores de 26-52  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  entre los tratamientos y genotipos de los Exp. 5 y 6 (Tabla 4.6). Se observaron efectos significativos del genotipo y del tratamiento de desecado, con interacción entre ellos. El tratamiento con PAR en los genotipos G2 y G3 mostró valores de conductividad significativamente menores (mayor vigor) con respecto control, mientras que para G1 esas diferencias no fueron significativas.

En el Exp.7, el PAR también disminuyó significativamente la conductividad (mostrando mayor vigor) con respecto al control en todos los genotipos excepto G1 (Tabla 4.6).

G3 y G3' exhibieron los mayores niveles de conductividad, indicando que las semillas de estos genotipos alto oleico tenían menor vigor (Tablas 4.6 y 4.7). La efectividad del test de conductividad para detectar diferencias entre los tratamientos desecados concuerda con los resultados de Kappes *et al.* (2012), Bellé *et al.* (2014) y Pinto *et al.* (2014). Las semillas de soja desecadas no mejoraron su vigor luego de la aplicación de desecantes (Inoue *et al.*, 2003; Marcandalli *et al.*, 2011; Albrech *et al.*, 2012; Toledo *et al.*, 2012), lo cual contrasta con lo hallado en la presente investigación en girasol.

Tabla 4.6. Vigor de semillas de girasol medido a través del test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio (TZ-semillas de vigor alto) para tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de 3 genotipos en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Test de vigor	
			Conductividad Eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	TZ- Semillas de vigor alto (%)
5	G1	PAR	31,3 a*	99 a
		CM	30,5 a	100 a
		Control	30,4 a	89 b
	G2	PAR	26,2 b	100 a
		CM	25,5 b	99 a
		Control	39,9 a	79 b
	G3	PAR	44,8 b	93 a
		CM	44,5 b	93 a
		Control	52,0 a	85 b
6	G1	PAR	32,6 b	93 ab
		CM	30,7 b	98 a
		Control	60,5 a	87 b
	G2	PAR	33,0 b	94 a
		CM	31,9 b	90 ab
		Control	83,2 a	81 b
	G3	PAR	46,9 b	97 a
		CM	45,0 b	95 a
		Control	73,5 a	81 b
E			<0,0001	0,0010
G			<0,0001	0,0015
T			<0,0001	<0,0001
E × G			0,0115	0,0050
E × T			<0,0001	0,1680
G × T			0,0009	0,0268
E × G × T			0,2781	0,0255

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.7. Vigor de semillas de girasol medido a través del test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio (TZ-semillas de vigor alto) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control de 5 genotipos en Venado Tuerto, experimento 7.

Genotipo	Tratamiento	Conductividad Eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	TZ- Semillas de vigor alto (%)
G1	PAR	54,8 a*	72 a
	Control	69,5 a	60 a
G2	PAR	37,1 b	87 a
	Control	74,9 a	66 b
G3'	PAR	55,7 b	76 a
	Control	94,5 a	70 a
G4	PAR	23,9 b	88 a
	Control	64,2 a	44 b
G5	PAR	39,3 b	79 a
	Control	89,3 a	78 a
G		<0,0001	0,0427
T		<0,0001	0,0001
G × T		0,0020	0,0028

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Se muestran valores del test de ANDEVA para el genotipo (G) y el tratamiento de desecado (T) y su interacción ( $P < 0,05$ ).

El aumento en el vigor ocasionado por la desecación en girasol fue corroborado mediante el test de Tetrazolio (Tablas 4.6 y 4.7), confirmando el efecto beneficioso del PAR en la calidad de las semillas. Estos resultados coinciden con Daltro *et al.* (2010) quienes también detectaron mejoras en el vigor de semillas de soja desecadas con (PAR, Diquat o Glifosato) con respecto a los controles. Dichos autores atribuyeron esta mejora a la reducción en la exposición a las lluvias y humedad relativa de las semillas tratadas.

Un aspecto importante es que la germinación y el vigor obtenidos con desecación física en el tratamiento CM no variaron en forma significativa con lo observado bajo la aplicación de PAR. Ello sugiere que el PAR no ingresó en los tejidos de las semillas o bien que, de haber ingresado, su poder oxidante no ejercería efectos nocivos en la calidad inicial de las semillas híbridas de girasol. De este modo se descartan los posibles efectos

fitotóxicos del producto en las semillas analizadas. A diferencia de los antecedentes que hallaron perjuicios en la calidad fisiológica de las semillas desecadas químicamente en otras especies, como soja, los resultados aquí expuestos manifestaron efectos positivos de la desecación química en la calidad de las semillas de girasol, concordando con Liović *et al.* (2008) y Howatt *et al.* (2009) cuando aplicaron desecantes con humedad de semillas <50%.

#### 4.3.2.3 Efectos del ambiente en la calidad de semillas

El incremento en la germinación y el vigor en el tratamiento con PAR, se asoció al acortamiento del tiempo de exposición de las semillas a condiciones meteorológicas extremas, lo que habría minimizado el deterioro. En todos los experimentos el PAR disminuyó la exposición de las semillas a temperaturas diarias > a 30°C, precipitaciones y humedad relativa con respecto al Control (Figura 4.7).

En este sentido, Pereira Da Silva (2011) también observó efectos positivos de la desecación con Diquat en la calidad de las semillas de girasol, relacionándolo con la reducción de su permanencia en el campo. Esta menor exposición a las fluctuaciones del ambiente meteorológico de las semillas de girasol desecadas con PAR, contribuyó a la mejora en su calidad fisiológica.

Por otra parte Inoue *et al.* (2012) halló que las precipitaciones ocurridas alrededor de la aplicación o la cosecha pueden alterar la respuesta de la germinación y el vigor de las semillas de soja desecadas con Diquat. Dado esto, se realizó un análisis más detallado del impacto de las condiciones meteorológicas, durante la maduración, en la calidad de las semillas. Para ello, se incorporaron los Exp. 1 y 2 (genotipo IL02 en 5 experimentos y el genotipo IL00 x IL01 en 3 experimentos). En base a este conjunto de datos, no se detectaron efectos significativos del genotipo en la germinación, pero si entre experimentos y tratamientos de desecado (Tabla 4.8). No se detectó interacción E x T. En el tratamiento con PAR y el genotipo IL02, los experimentos 1 y 2 tuvieron mejores niveles de germinación. Mientras que, en el genotipo IL00 x IL01 con PAR, la germinación fue

significativamente mayor en el experimento 5 (Tabla 4.8). En el caso de los controles, la germinación fue similar en todos los ambientes (Tabla 4.8).

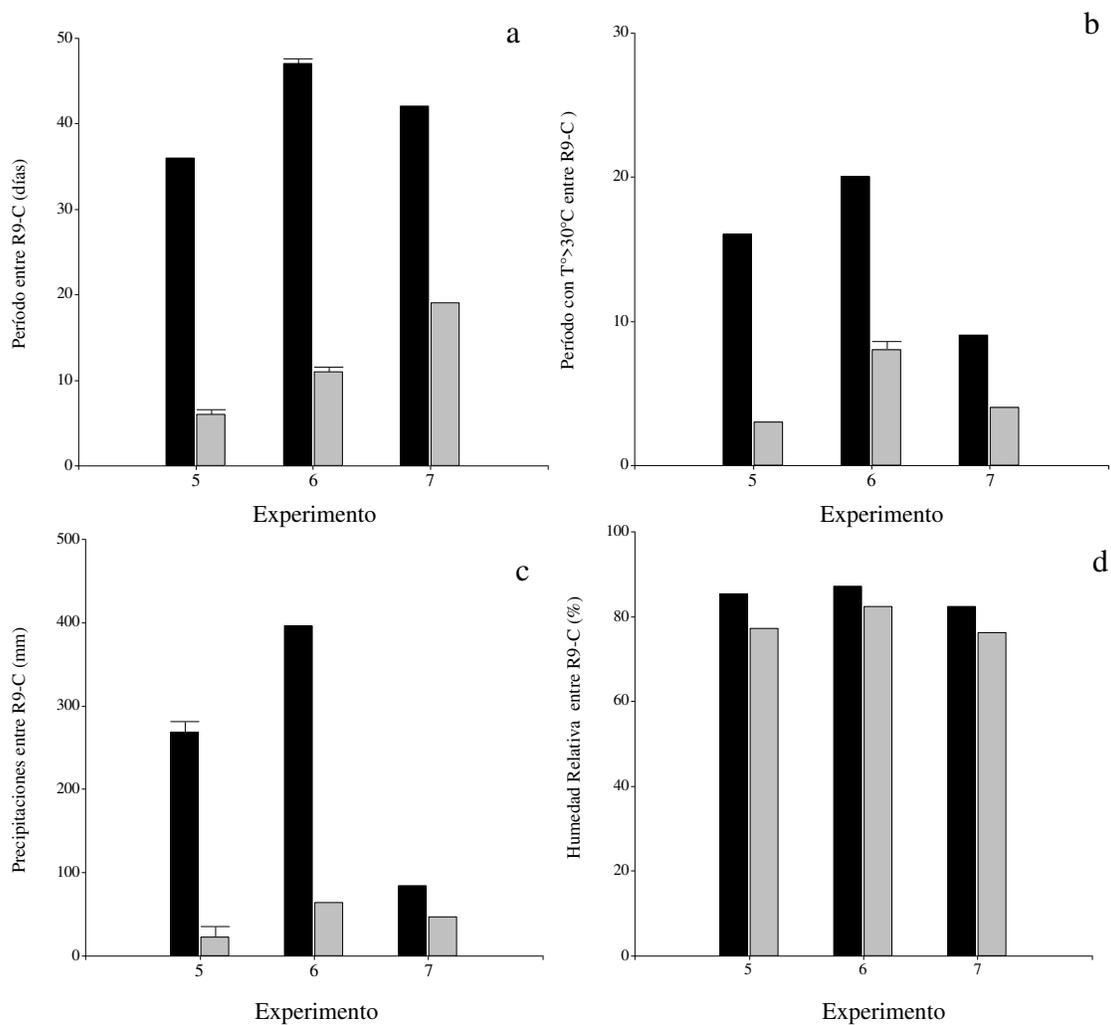


Figura 4.7. Días entre madurez fisiológica-cosecha (R9-C) (a), días con temperaturas  $>$  a  $30^{\circ}\text{C}$  (b) ( $T^{\circ} > 30^{\circ}$ ), precipitaciones (mm) (c) y humedad relativa (%) (d) en el mismo período, para 3 genotipos (IL02, IL00 x IL01 e IL10) en Venado Tuerto, experimentos 5 al 7 bajo los tratamientos de PAR (barras grises) y control (barras negras).

Tabla 4.8. Germinación y Conductividad Eléctrica de los genotipos IL02 e IL00 x IL01 para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Germinación St/Sp	Conductividad Eléctrica
1	IL02	PAR	99 Aa*	44,8 Aa
		Control	97 Aa	58,8 ABa
2	IL02	PAR	97 ABa	25,3 Ba
		Control	92 Aa	39,9 BCa
3	IL02	PAR	92 BCa	31,1 Ba
		Control	85 Ab	30,2 Ca
	IL00 x IL01	PAR	92 Ba	26,2 Ba
		Control	89 Aa	39,9 Ba
4	IL02	PAR	90 Ca	24,3 Bb
		Control	87 Aa	60,5 ABa
	IL00 x IL01	PAR	93 Ba	28,0 Bb
		Control	83 Ab	83,2 Aa
5	IL02	PAR	91 BCa	54,8 Aa
		Control	86 Aa	69,5 Aa
	IL00 x IL01	PAR	98 Aa	37,1 Ab
		Control	90 Ab	74,9 Aa
	E		0,0012	< 0,0001
	G		0,6498	0,1111
	T		0,0002	< 0,0001
	E x G		0,2262	0,0432
	E x T		0,9126	0,0010
	T x G		0,3824	0,0013
	E x G x T		0,3135	0,8363

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna y mayúsculas entre experimentos. Se muestran valores del test de ANDEVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

El vigor (Conductividad Eléctrica) evidenció una tendencia similar a la germinación, con efectos significativos del experimento y tratamiento de desecado y sin efectos genotípicos. Además, se observaron interacciones entre E x G, E x T, T x G. Para el

tratamiento con PAR y genotipo IL02, los ambientes 2, 3 y 4 mejoraron el vigor (Tabla 4.8). El genotipo IL00 x IL01 en el mismo tratamiento de PAR, coincide con esta mejora en el vigor en los ambientes 3 y 4. En el caso de los controles el mayor vigor se observó en el ambiente 3 para el genotipo IL02 y en el ambiente 3 para el genotipo IL00 x IL01 (Tabla 4.8).

Independientemente del tratamiento de desecado, las condiciones ambientales (experimentos) ocasionaron modificaciones en la calidad de las semillas. Algunos ambientes (experimentos) reúnen condiciones que aumentan los niveles de germinación y vigor de las semillas analizadas. El análisis de regresión de variables meteorológicas en el período comprendido entre la MF y las respectivas cosechas (Tabla 4.9) permitió identificar que (i) la germinación se asoció en forma negativa y significativa con la cantidad de días entre R9-Cosecha, las precipitaciones, la humedad relativa, la radiación y la cantidad de días con temperaturas  $> 30^{\circ}\text{C}$  y ii) que la Conductividad Eléctrica se asoció en forma positiva y significativa con la cantidad de días entre R9-Cosecha, las precipitaciones, la radiación y la cantidad de días con temperaturas  $> 30^{\circ}\text{C}$  (Tabla 4.9), indicando que incrementos en los niveles de estas variables comprometen la calidad fisiológica de las semillas de girasol.

Tabla 4.9. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre la calidad fisiológica (Germinación SpSc y Conductividad Eléctrica), los días entre MF-cosecha y las variables meteorológicas para el mismo período (precipitaciones, humedad relativa, radiación y temperatura media) para 2 genotipos (IL02 e IL00 x IL01) en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5, n = 32.

	Germinación SpSc		Conductividad Eléctrica	
	r	p	r	P
Días entre MF-Cosecha	-0,65*	0,0001	0,72*	<0,0001
Precipitaciones	-0,55*	0,0011	0,48*	0,0055
Humedad relativa	-0,51*	0,0031	0,36*	0,0414
Radiación	-0,67*	<0,0001	0,43*	0,0134
Días con Temp $> 30^{\circ}\text{C}$	-0,66*	<0,0001	0,42*	0,0164
Temperatura media	0,13ns	0,4799	-0,69*	<0,0001

\* Valores con p significativos, ns= no significativo

El experimento que más favoreció la calidad de las semillas fue el 2, el cual combinó la menor cantidad de días entre R9-Cosecha, pocos días con temperaturas  $>30^{\circ}\text{C}$  y bajos niveles de precipitaciones (Tabla 4.10).

Tabla 4.10. Longitud (días), precipitaciones, humedad relativa, radiación, temperatura media (T) y cantidad de días con  $T>30^{\circ}\text{C}$  para el período MF-cosecha (R9-C) en 2 genotipos (IL02 e IL00 x IL01) y el tratamiento con PAR en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 1 al 5.

Exp.	Días entre R9-C	Precipitaciones (mm)	Humedad relativa (%)	Radiación ( $\text{Mj/m}^2$ )	Temperatura media ( $^{\circ}\text{C}$ )	Días con $T > 30^{\circ}\text{C}$
1	13 B*	61,3 A	81 B	76,0 B	20,4 E	6 B
2	7 D	0,3 B	81 B	77,0 AB	25,1 A	5 BC
3	6 D	22,7 B	77 C	52,0 C	23,9 AB	3 D
4	11 C	63,8 A	82 A	86,1 A	23,2 C	8 A
5	19 A	46,3 A	76 C	67,7 B	22,7 D	4 C

\* Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre experimentos en cada columna.

Condiciones de humedad y temperatura extremas en el ambiente de producción pueden ocasionar reducciones en la viabilidad y el vigor de las semillas de girasol (Miklič *et al.*, 2006; Radić *et al.*, 2009). Similares efectos de las condiciones meteorológicas durante la maduración a campo sobre el vigor han sido observados en soja, trigo, cebada y maní (Egli *et al.*, 2005; Samaraha y Alqudaha, 2011; Hasan *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2013). Sin embargo, aún se desconoce la importancia relativa de cada uno de estos factores ambientales y la habilidad de cada especie para mantener la calidad de sus semillas en condiciones de estrés (Shinohara *et al.*, 2006). El efecto de las variables meteorológicas en la calidad de semillas de girasol es un análisis que excede los objetivos planteados en la presente tesis. Sin embargo, los resultados hasta aquí obtenidos extienden el conocimiento actual, ya que no existe información publicada localmente, sobretodo en relación a la aplicación de desecantes.

Contrariamente a lo hallado por Delgado *et al.* (2015), las diferencias en la constitución genética (tipo de cruzamiento) de los materiales evaluados no revelaron diferencias importantes en la sensibilidad a la desecación. Independientemente de esto, se observaron diferencias asociadas a la composición acídica de los genotipos, ya que las

semillas alto oleico mostraron niveles de germinación y vigor significativamente menores en la mayoría de los experimentos. La relación entre la calidad de las semillas y su composición acídica será analizada con mayor profundidad en el siguiente capítulo.

Los resultados positivos obtenidos en los capítulos previos carecerían de utilidad si la exposición a productos químicos comprometiera la germinación o el vigor de las semillas de girasol. Por tal razón el principal aporte al conocimiento en esta tesis está vinculado con el análisis minucioso del impacto del desecado en la calidad fisiológica de las semillas. La literatura científica refleja numerosos antecedentes en otros cultivos pero la información disponible para girasol es internacionalmente escasa e inexistente en las condiciones locales de producción.

#### **4.4 CONCLUSIONES**

En las condiciones y genotipos empleados en este estudio, el anticipo en la cosecha asociado a la aplicación de PAR aumenta la dormición de semillas de girasol, mediante cambios en la morfología de las células endospermáticas. La cosecha anticipada pudo haber interrumpido el proceso natural de deshidratación de la pared celular de las células endospermáticas, aumentando de ese modo su espesor.

La cosecha anticipada con PAR beneficia la calidad fisiológica inicial de las semillas de girasol, a través de una menor exposición a las fluctuaciones del ambiente meteorológico.

El efecto beneficioso de la cosecha anticipada resulta independiente de la constitución genética de las líneas parentales femeninas.

## **CAPITULO V**

### **INFLUENCIA DE LA DESECACIÓN QUÍMICA SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE LAS SEMILLAS DE GIRASOL DURANTE EL ALMACENAMIENTO**

## 5.1 INTRODUCCIÓN

El deterioro es un aspecto crítico para la industria semillera. Uno de sus principales objetivos es mantener la calidad de las semillas en niveles elevados hasta el momento de la venta, logrando un aceptable valor tecnológico y de mercado (Mrđa *et al.*, 2010). En nuestro país, la comercialización de semillas se basa en estándares de calidad que se encuentran en la legislación (Ley de semillas 20.247 y Res. N° 2.183/1991 a 187-2015). Además, cada empresa somete su proceso de producción a estándares de control de calidad propios, que usualmente resultan más exigentes que los dispuestos por la normativa nacional (Renteria Com. Pers.). Para sostener los estándares de calidad, las empresas pueden almacenar las semillas bajo diferentes condiciones ambientales, incluyendo galpones sin control ambiental y cámaras de frío (con control de la temperatura y humedad relativa del ambiente), dependiendo del nivel de costos y de capitalización de las empresas semilleras (Yousaf, 2016).

La calidad de las semillas de girasol se reduce gradualmente durante el almacenamiento. La longevidad puede variar desde 6 a 20 meses o más, si las semillas son destinadas como “*carry over*” (Šimić *et al.*, 2007). La disminución de la calidad ocurre bajo la influencia de factores genéticos, condiciones ambientales durante la maduración de las semillas, daños mecánicos en la cosecha o procesamiento, presencia de plagas y enfermedades, grado de humedad en la cosecha, tamaño de las semillas, tipo de envases utilizados, tratamientos con pesticidas, humedad y temperatura del ambiente de almacenamiento (Popinigis, 1985; Mc Donald, 1999).

A medida que las semillas envejecen sufren drásticos cambios internos. Uno de ellos es el estrés oxidativo generado como consecuencia del aumento en la cantidad de especies reactivas de oxígeno con capacidad de oxidar distintos compuestos a nivel celular (Bailly *et al.*, 1996). La peroxidación de lípidos y el incremento en el contenido de ácidos grasos libres constituyen las principales causas de deterioro en las semillas de oleaginosas (Balešević-Tubić *et al.*, 2005). Entre sus efectos más notables se encuentran la degradación

de membranas biológicas, la desnaturalización de proteínas, interferencias en la síntesis de ADN y proteínas, acumulación de materiales tóxicos y la destrucción del sistema transportador de electrones de la fosforilación oxidativa (Wilson y Mc Donald, 1986). Tales procesos llevan a reducciones en la germinación y el vigor de las semillas y por ende comprometen su futura performance a campo (Kausar *et al.*, 2009). Esto implica importantes pérdidas económicas para el productor (Casini, 2004) y pueden reducir considerablemente el precio de venta de las semillas (Renteria, Com. Pers.).

El estrés oxidativo, que se produce naturalmente durante el envejecimiento, podría ser potenciado por la aplicación del PAR, teniendo en cuenta su gran capacidad oxidativa. Si bien en el Capítulo anterior de esta tesis no se observaron efectos nocivos del PAR en la calidad de semillas (Tablas 4.4 a 4.6), es importante considerar que los desecantes pueden no afectar de inmediato la viabilidad de las semillas, pero si tener efectos latentes a mediano plazo que se manifiesten durante el almacenamiento. Además, este tiempo debe ser lo suficientemente prolongado como para que los posibles daños se manifiesten. Luego de 5 meses, las semillas de girasol provenientes de plantas desecadas con Diquat germinaron mejor que el control, sin embargo el vigor se redujo significativamente cuando el producto se aplicó con altas dosis (Pereira Da Silva, 2011). Según Domingos *et al.* (2000) la calidad fisiológica de las semillas de poroto tratadas con PAR se mantuvo por encima del control durante el almacenamiento. En soja, el glifosato redujo la calidad inicial de las semillas como consecuencia de la fitotoxicidad, pero esta respuesta se revirtió a los 8 meses de almacenamiento, probablemente a causa de la degradación del principio activo y sus metabolitos secundarios (Toledo *et al.*, 2014). En contraposición, Santos *et al.* (2005) no hallaron perjuicios en la calidad inicial, pero si disminuciones significativas del porcentaje de germinación de las semillas de poroto tratadas con Carfentrazone, luego de 80 días de almacenamiento. El desecado en poroto con Saflufenacil no modificó la germinación durante el almacenamiento en relación al control, pero el vigor aumentó o se redujo dependiendo del test empleado (Tavares *et al.*, 2015). Así en diferentes especies, se observan resultados contradictorios en la literatura acerca del efecto de la desecación química sobre la calidad de las semillas durante el almacenamiento prolongado.

Los híbridos modernos de girasol contienen entre un 47 y 53 % de aceite (Aguirrezabal *et al.*, 2015) y pueden clasificarse dependiendo del contenido de ácido oleico en: tradicionales con un 14 a 39 %, mid-oleicos con 42 a 72 % y alto oleico con 75 a 91% (Código Alimentario, 2005). Los cambios peroxidativos que ocurren durante el deterioro pueden ser modificados por la composición acídica de las semillas (Mc Donald, 1999). En girasol, la composición acídica es un carácter aportado tanto por las líneas materna y paterna (Premnath *et al.*, 2016). Por ello, es posible que semilla híbrida de girasol con diferente constitución génica, contenido de aceite y composición de ácidos grasos, difiera en su susceptibilidad a la oxidación durante el almacenamiento. Balešević-Tubić *et al.* (2005) indicaron que las líneas de girasol con mayores contenidos de aceite pueden ser menos tolerantes a los cambios peroxidativos. Además altos contenidos de ácido oleico se asocian con una mayor estabilidad oxidativa (Mourad *et al.*, 2016). Por lo que es posible pensar que altos contenidos de ácido oleico podrían contrarrestar los efectos de la oxidación (natural o producida por el PAR) y minimizar el deterioro de las semillas de girasol.

Por otra parte, la concentración del ácido oleico puede disminuir a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento (Crapiste *et al.*, 1999). Ghasemnezhad y Honermeier (2007) mencionan reducciones en la concentración de aceite y ácido oleico luego de 4 meses de almacenamiento, que se tradujeron en incrementos en la producción de ácidos grasos libres y un mayor deterioro. En cambio, Mourad *et al.* (2016) no hallaron cambios en la concentración ni composición de aceite en semillas de girasol alto y bajo oleico (tradicionales) luego del almacenamiento en diferentes condiciones. En almacenamientos extremadamente prolongados, Šimić *et al.* (2007) hallaron reducciones del contenido de aceite luego de 4 años, con diferencias entre genotipos de girasol.

En Argentina, las semillas de girasol son almacenadas desde la cosecha (febrero o marzo) hasta el momento de venta, en octubre o noviembre. En el caso de que las semillas no se comercialicen hasta la campaña siguiente (*carry-over*), pueden almacenarse por períodos más prolongados (hasta 18 meses). Las condiciones del almacenamiento, especialmente la humedad y la temperatura, son variables críticas para la conservación de la

calidad fisiológica de las semillas, cuanto menor es la humedad y la temperatura, mayor es el tiempo de conservación (Popinigis, 1985). En general las empresas semilleras almacenan las semillas en cámaras con humedad relativa y temperatura controladas, a menos del 65% de humedad relativa y una temperatura entre 12 y 15°C. Pero los elevados costos de refrigeración y mantenimiento de los equipos pueden hacer que las semillas destinadas a *carry over* no se almacenen en ambientes controlados.

Las complejas relaciones entre la velocidad de deterioro de las semillas de girasol y los cambios en el contenido y composición de aceite que se producen a lo largo del tiempo de almacenamiento aún no ha sido dilucidadas. Los estudios previos analizan estas variables por separado sin establecer asociaciones entre ellas. Balešević-Tubić *et al.* (2007) encontraron disminuciones significativas en la germinación y el vigor de cinco líneas de girasol, sin cambios en el porcentaje de aceite ni oleico durante 12 meses. Del mismo modo, Abreu *et al.* (2013) indicaron que la germinación, el vigor (medido a través del test de envejecimiento acelerado) y el porcentaje de aceite de las semillas de girasol se redujeron durante 12 meses, sin cambios en la composición de ácidos grasos. Estas disminuciones fueron menos pronunciadas en el almacenamiento a 10°C. De Oliveira Lins *et al.* (2014) no detectaron cambios en la germinación en semillas de girasol almacenadas a 10 y 25°C. Sin embargo, hallaron disminuciones en el vigor y el porcentaje de aceite y ácido oleico conjuntamente con la degradación de los cuerpos lipídicos, en especial luego de 8 meses de almacenamiento a 25°C. Estas modificaciones no se detectaron en el almacenamiento a 10°C. Por otra parte, Walters *et al.* (2005) manifestaron cambios significativos en la concentración de aceite, el perfil ácido y el contenido de ácidos grasos libres, solo cuando las semillas de girasol se encontraban severamente dañadas y habían perdido completamente su viabilidad. En soja, Mbofung *et al.* (2013) no hallaron asociaciones entre la germinación y el porcentaje de aceite, pero si incrementos en el vigor (medido por envejecimiento acelerado) a medida que aumenta el contenido de aceite, independientemente del ambiente de almacenamiento.

Las condiciones de cosecha y postcosecha, generadas por el desecado, pueden afectar la velocidad de deterioro de las semillas y modificar el poder germinativo o el vigor durante

el almacenamiento en forma diferencial, de acuerdo a la composición de lípidos presentes en las semillas. Por lo cual es importante considerar probables efectos oxidantes del PAR en semillas de diferente composición acídica y en diferentes condiciones de almacenamiento. Estas asociaciones no han sido estudiadas previamente utilizando los protocolos estandarizados de ISTA (germinación evaluada a partir del recuento de plántulas normales) o durante el almacenamiento prolongado en condiciones reales de producción, ni tampoco no han sido documentados en la producción de semillas híbridas ni a nivel local.

Los objetivos e hipótesis del presente capítulo fueron:

**Objetivo 5.1:** Analizar el impacto de la desecación química con PAR sobre la calidad fisiológica de semillas de girasol en diferentes condiciones de almacenamiento.

**Hipótesis 5.1:** Las semillas de girasol desecadas pueden deteriorarse más rápidamente si los efectos tóxicos del PAR se expresan durante el almacenamiento prolongado.

**Objetivo 5.2:** Comparar la evolución del deterioro de las semillas desecadas con PAR en genotipos con diferente composición acídica.

**Hipótesis 5.2:** Las semillas de girasol con altos niveles de ácido oleico pueden contrarrestar los efectos oxidativos del PAR y ocasionar un deterioro más lento en el almacenamiento.

## 5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.2.1 Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Se analizaron los cambios en la calidad fisiológica de las semillas híbridas de girasol obtenidas a partir de los Exp. 5, 6 y 7 (Capítulo III), durante un período de 19 meses de almacenamiento. Muestras de 2 kg de semillas fueron almacenadas en bolsas de polietileno de baja densidad bajo dos condiciones ambientales contrastantes:

- i) No controladas (Galpón):  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$  y 30-70 % de humedad relativa (HR).

- ii) Controladas (Cámara de frío):  $10 \pm 2$  °C y 60% de HR.

### 5.2.2 Variables medidas

A intervalos regulares de tiempo durante el almacenamiento (1, 5, 9, 13 y 19 meses) se extrajeron 4 repeticiones de 50 semillas de cada tratamiento (PAR, CM y Control) para realizar las siguientes determinaciones:

- i) *Contenido de aceite y ácido oleico en la semilla híbrida almacenada*: Fueron determinados mediante Resonancia Magnética Nuclear (NMR) con un equipo Spinlock (SLK-100, Córdoba Argentina).
  
- ii) *Germinación*: como se mencionó en el capítulo anterior, en el primer mes de evaluación fue necesario aplicar métodos para romper la dormición. El método más efectivo fue la remoción del pericarpio y la cubierta seminal (SpSc) de modo que se continuó aplicando dicho método en las evaluaciones a lo largo del almacenamiento. La pérdida natural de la dormición de las semillas de girasol se observó a los 5 o 6 meses desde la cosecha. A partir de ese momento, se pudo aplicar también la metodología recomendada por ISTA para la ruptura de la dormición en el cultivo de girasol (Pre-enfriado a 5°C durante 48 h). La aplicación de ambas metodologías permitió compararlas entre sí y analizar la germinación en semillas despiertas acondicionadas tanto sin cubiertas seminales (Método SpSc) como en semillas con cubiertas (cipsela) (Método de ISTA). Las semillas fueron incubadas entre sustrato papel a 25°C con 12 h. luz/ 12 h. oscuridad (ISTA, 2010). El porcentaje de germinación se calculó en base a la cantidad de semillas que originaron plántulas normales al 10° día desde el comienzo del test, según el *Handbook on Seedling Evaluation* (ISTA, 2006).
  
- iii) *Vigor*: los métodos que se seleccionaron para medir esta variable en durante el almacenamiento fueron:

a) Conductividad Eléctrica, colocando semillas sin pericarpio, previamente pesadas, en 75 ml de agua destilada a 25°C durante 24 h. Esta variable se midió utilizando un conductímetro Orion (Orion 120, Boston, USA) y expresada en  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , según Braz *et al.* (2008), utilizando como valores orientativos los umbrales de vigor sugeridos recientemente para girasol en Szemruch *et al.* (2015). Para evitar interacciones de la temperatura de almacenamiento con la temperatura de inmersión, las semillas fueron mantenidas fuera de la cámara de frío durante 24 h antes de ser colocadas en el agua destilada. Los resultados de este test fueron empleados para establecer la dinámica de deterioro de las semillas sometidas a los diferentes tratamientos. Esta dinámica se analizó en base a la “tasa de deterioro” establecida como el porcentaje de incremento en los niveles de Conductividad Eléctrica (CE) por cada mes de almacenamiento relativo al vigor inicial, según:

$$\text{Tasa de deterioro} = \frac{[(\text{CE}_{\text{mes}_{2, n\dots}} - \text{CE}_{\text{mes}_{1, n\dots}}) / \text{mes}_{2, n\dots} - \text{mes}_{1, n\dots}] \times 100}{\text{CE}_{\text{mes}_{1, n\dots}}}$$

b) Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto): mediante el test topográfico Tetrazolio, de acuerdo a una ligera adaptación de la metodología propuesta por ISTA (2010) en semillas sin pericarpio y sin testa (SpSt) embebidas en solución 2 cloruro de 2, 3, 5 – trifenil tetrazolio (0,5% w/v) a 25°C durante 4 h. Las semillas “viables sin defectos” fueron clasificadas como de “vigor alto” de acuerdo con la adaptación para soja de Gallo *et al.* (2012) y expresadas en porcentaje.

### 5.2.3 Análisis estadístico y diseño experimental

El diseño de los Exp. 5 a 7 se detalló en el capítulo III. Los datos se analizaron mediante ANDEVA y las medias se separaron mediante LSD ( $p < 0,05$ ). La evolución de la Conductividad Eléctrica a lo largo del tiempo se ajustó mediante curvas polinómicas, de

acuerdo al modelo conceptual de pérdida de vigor en función del tiempo (ver Fig. 1.2 del Capítulo I). Las asociaciones entre la germinación y vigor (Conductividad Eléctrica) en relación al porcentaje de aceite y oleico se estudiaron mediante el análisis de correlación de Pearson. La relación entre la germinación y la Conductividad Eléctrica se realizó mediante análisis de regresión lineal. Los valores expresados en porcentaje fueron previamente transformados por arcoseno según Little (1985). La variabilidad entre las repeticiones se determinó mediante el cálculo del error estándar. Es posible que en las figuras algunas barras error no se vean porque son más pequeñas que el tamaño de símbolo elegido. Se considera que dos puntos difieren en forma significativa cuando las barras de error estándar no se tocan entre sí (Cumming *et al.*, 2007). Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

## **5.3 RESULTADOS Y DISCUSION**

### **5.3.1 Efectos del desecante en la calidad de las semillas durante el almacenamiento.**

#### *5.3.1.1 Germinación*

Durante el almacenamiento de 19 meses, el desecado de las plantas con PAR o CM generó semillas que mantuvieron los niveles de germinación (SpSc e ISTA) por encima del control (Figuras 5.1 a 5.3). Solamente en los Exp. 5 y 6 se observó que las diferencias iniciales a favor del desecado se fueron perdiendo hacia el final del período explorado (Figuras 5. 1 y 5.2).

En el Exp. 5 (Figura 5.1) la mejora de la germinación lograda con PAR se observó en los genotipos tradicionales (G1 y G2) y en el alto oleico (G3). En el Exp. 6 (Figura 5.2), las diferencias entre PAR y control solo se detectaron en el genotipo G2 (tradicional) y G3 (alto oleico). En el Exp. 7 (Figura 5.3), las diferencias en la germinación entre PAR y

control se expresaron en los materiales tradicionales (G1, G2 y G5) y en la iso-línea mid-oleico (G4). Lo que indica que el efecto de los desecantes en la calidad durante el almacenamiento no dependería de la composición química de las semillas de girasol.

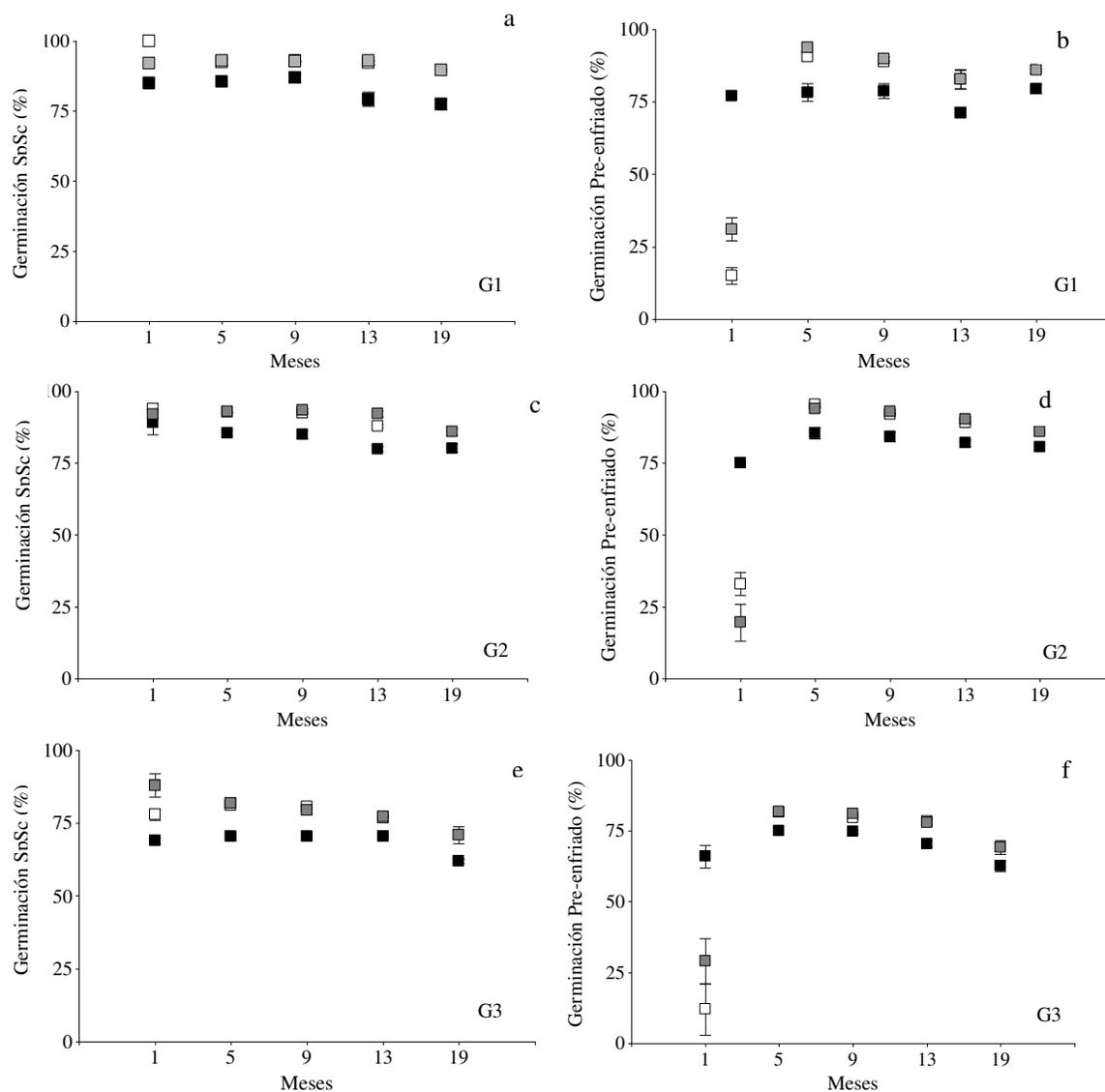


Figura 5.1. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e) y Pre-enfriado (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa en dicho momento.

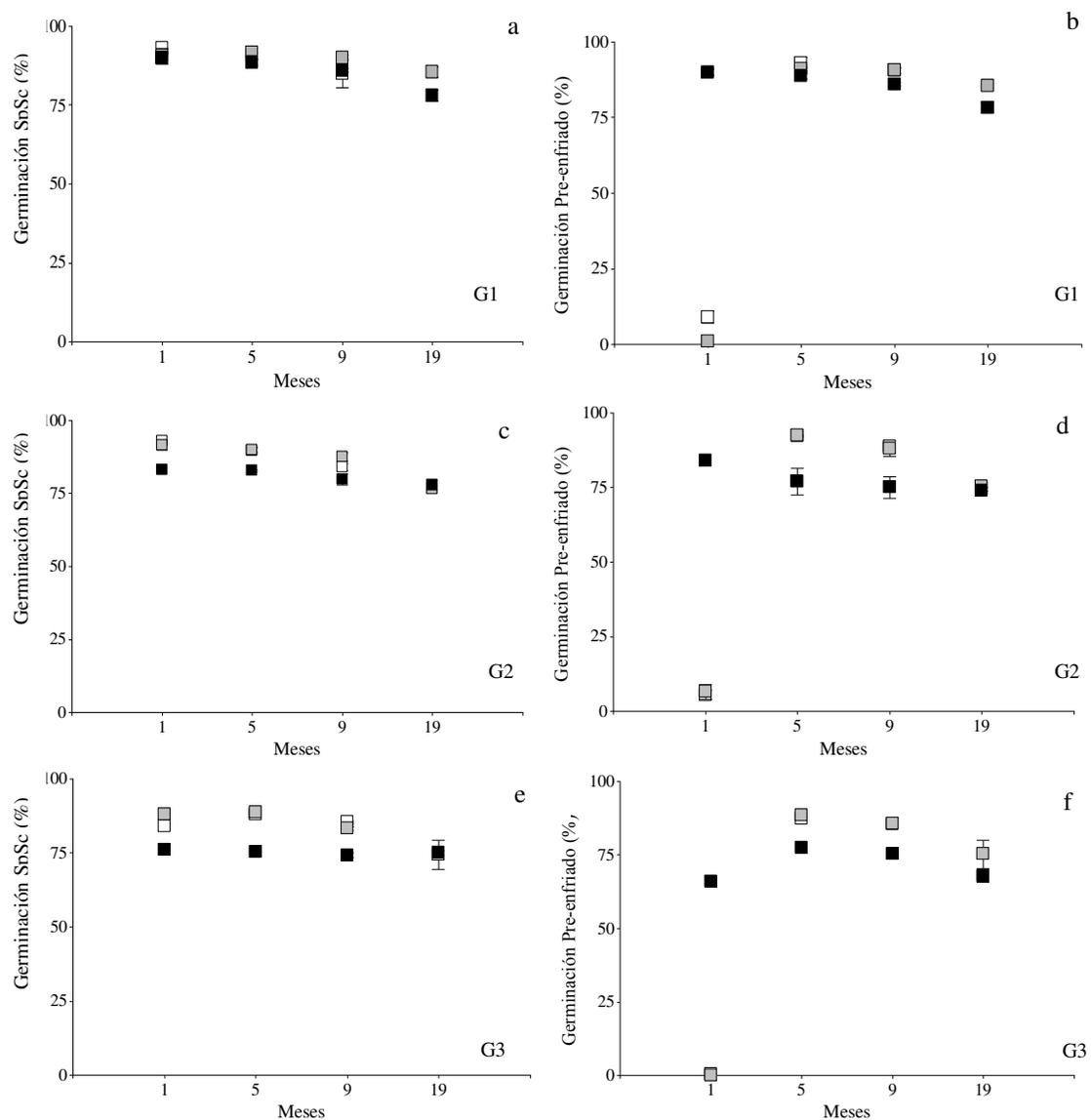
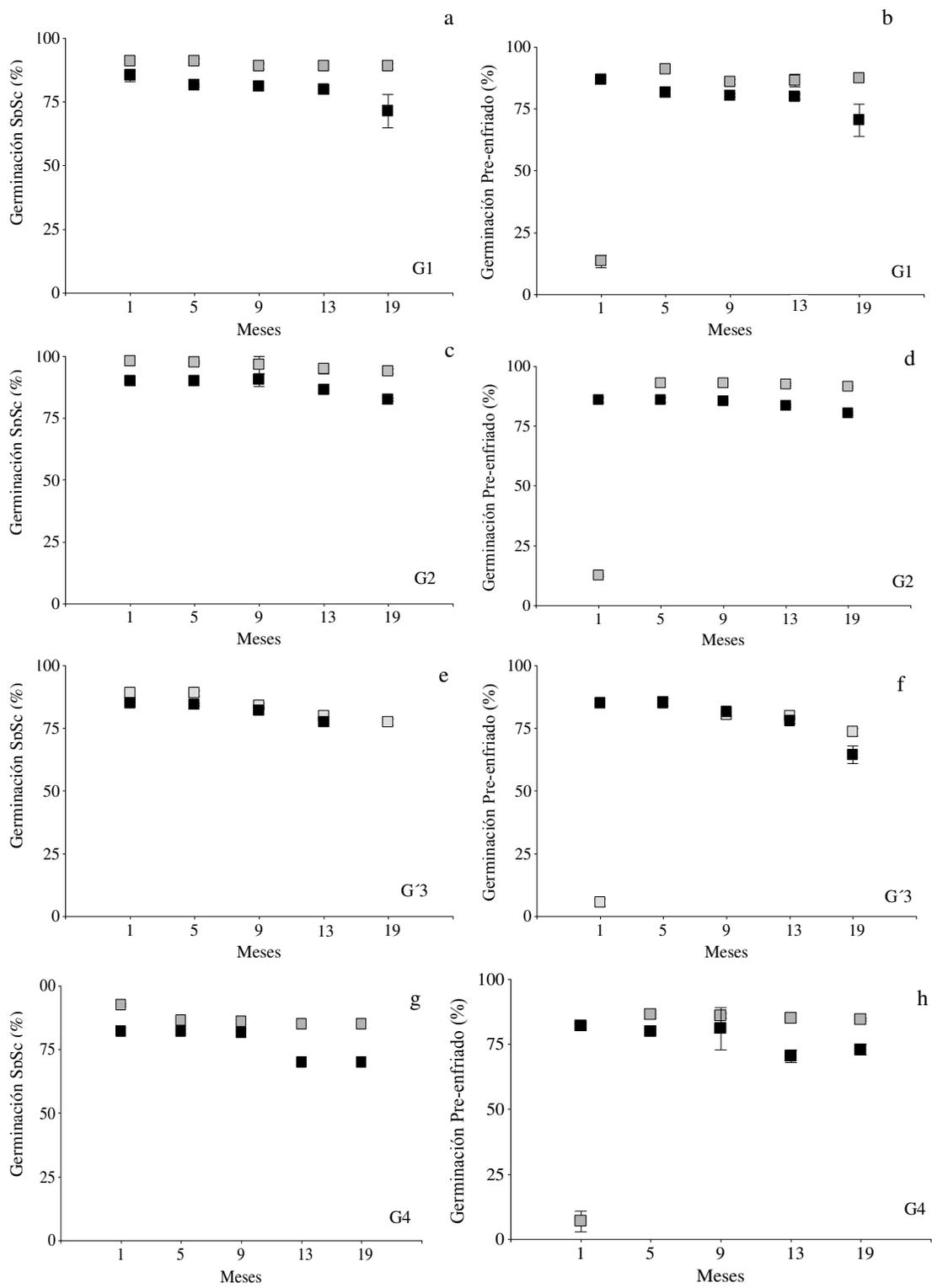


Figura 5.2. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e) y Pre-enfriado (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa para dicho momento.



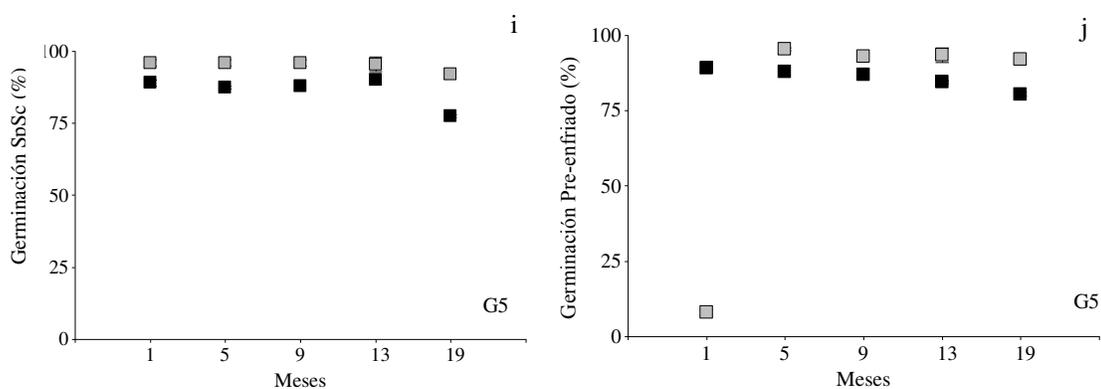


Figura 5.3. Evolución durante el almacenamiento de la germinación mediante los métodos de eliminación del pericarpio y cubierta seminal (SpSc) (a, c, e, g, i) y Pre-enfriado (b, d, f, h, j) para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros) de 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7. Las barras muestran el error estándar. Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes en los tratamientos de desecado (paneles b, d, f) para la metodología de Pre-enfriado, la cual no eliminó la dormición en forma completa para dicho momento.

### 5.3.1.2 Vigor

En los Exp. 5 y 6 el vigor medido a través test de Tetrazolio tuvo menor sensibilidad para detectar diferencias entre tratamientos de desecado (Figuras 5.4 y 5.5). Estos resultados coinciden con Tavares *et al.* (2015) quienes indicaron que la sensibilidad para detectar diferencias en la calidad de las semillas varía con el test de vigor empleado. Por lo mencionado el test de Tetrazlio se descartó en las evaluaciones de vigor del Exp.7 (Figura 5.6).

El test de Conductividad Eléctrica tuvo mayor sensibilidad para detectar diferencias entre tratamientos de desecado, manifestando un mayor vigor en las semillas con PAR en todos los experimentos y genotipos (Figuras 5. 4 a 5.6). La mejora del vigor causada por la desecación se observó tanto en materiales tradicionales como en los alto oleico (Figuras 5. 4 a 5.6), lo que indicaría que no hay efectos de la concentración o composición acídica.

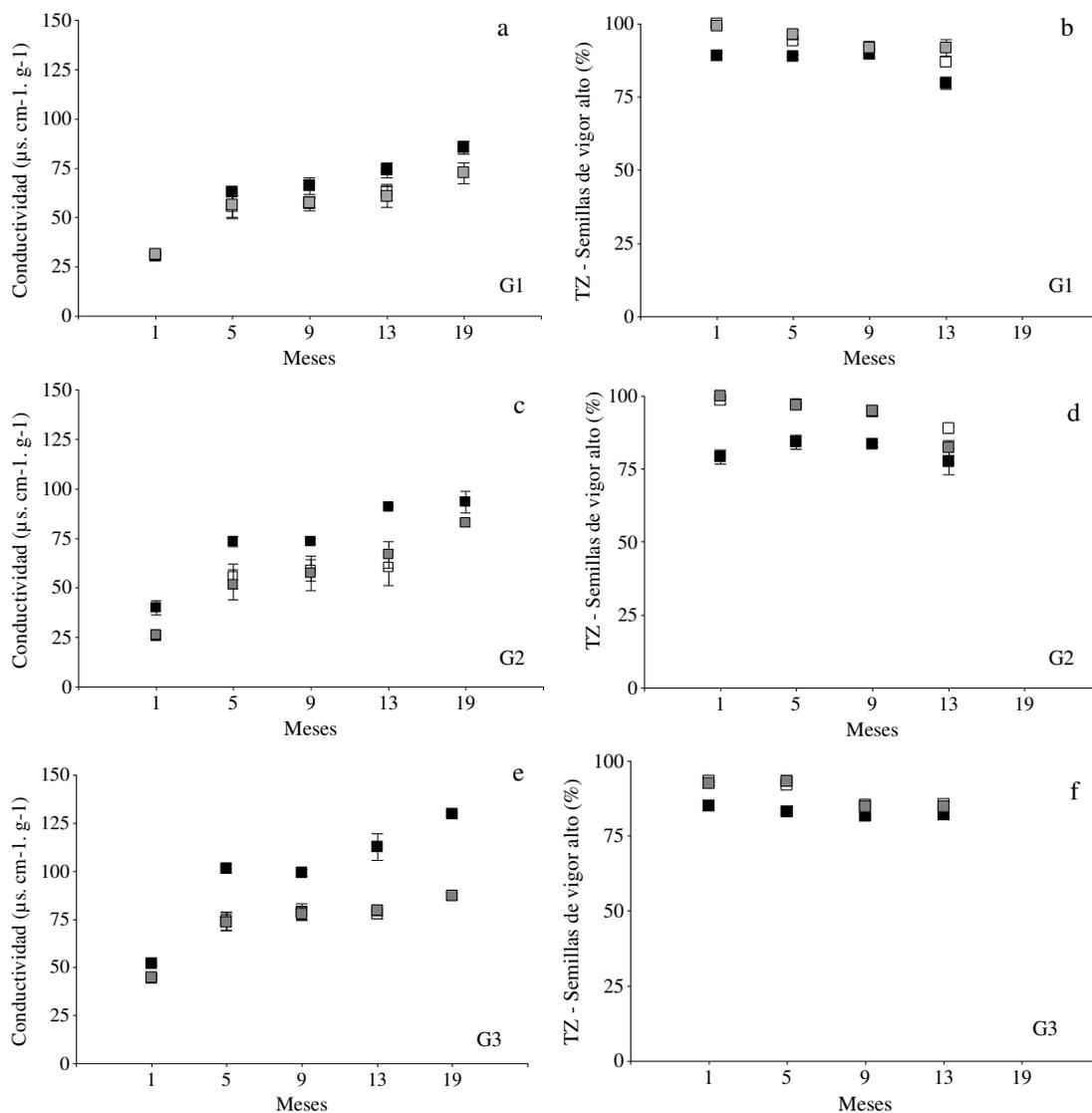


Figura 5.4. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, c, e) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos grises), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5. Las barras muestran el error estándar.

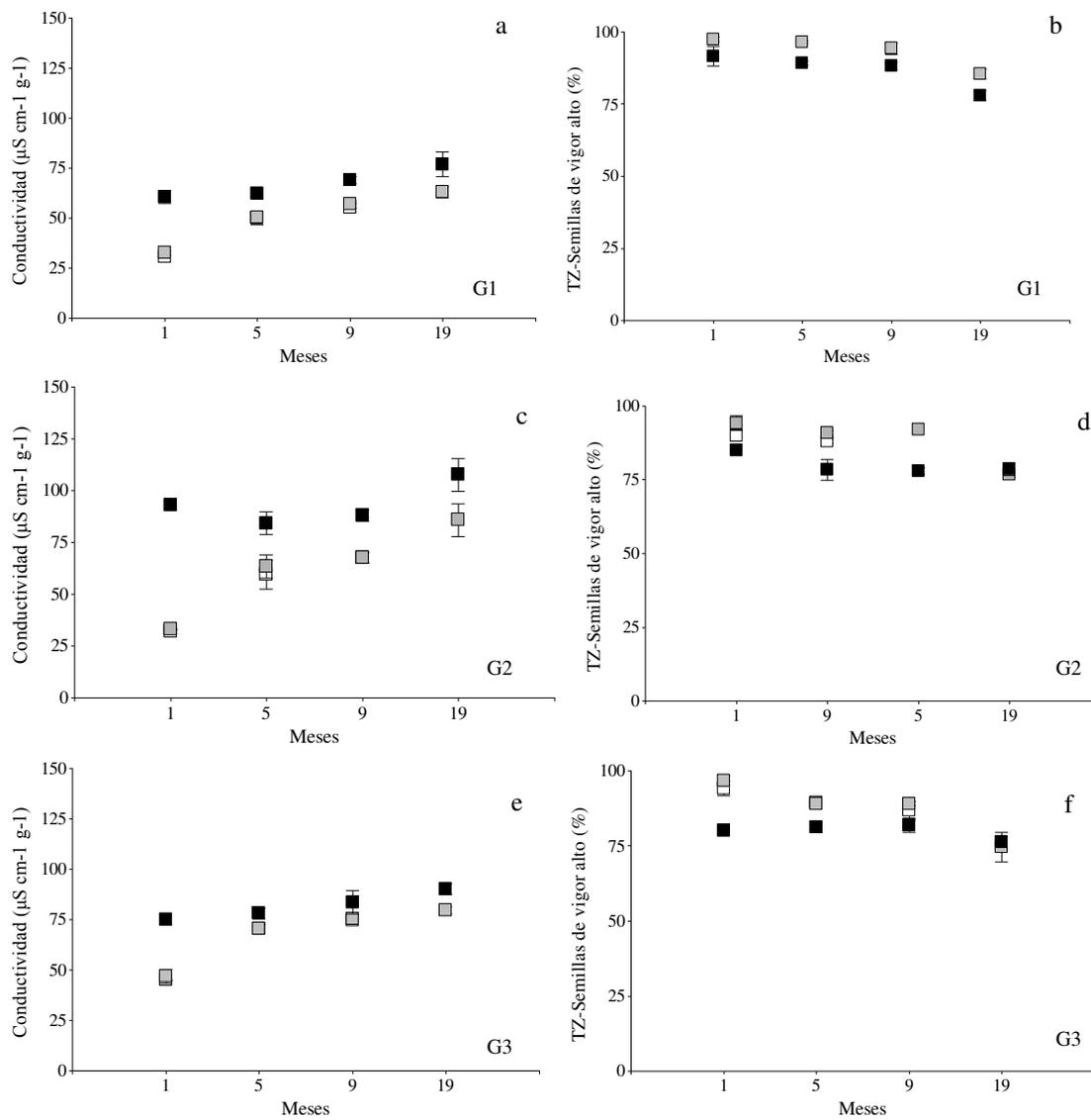


Figura 5.5. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, c, e) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (b, d, f) para los tratamientos de desecado con PAR (símbolos negros), CM (símbolos blancos) y Control (símbolos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6. Las barras muestran el error estándar.

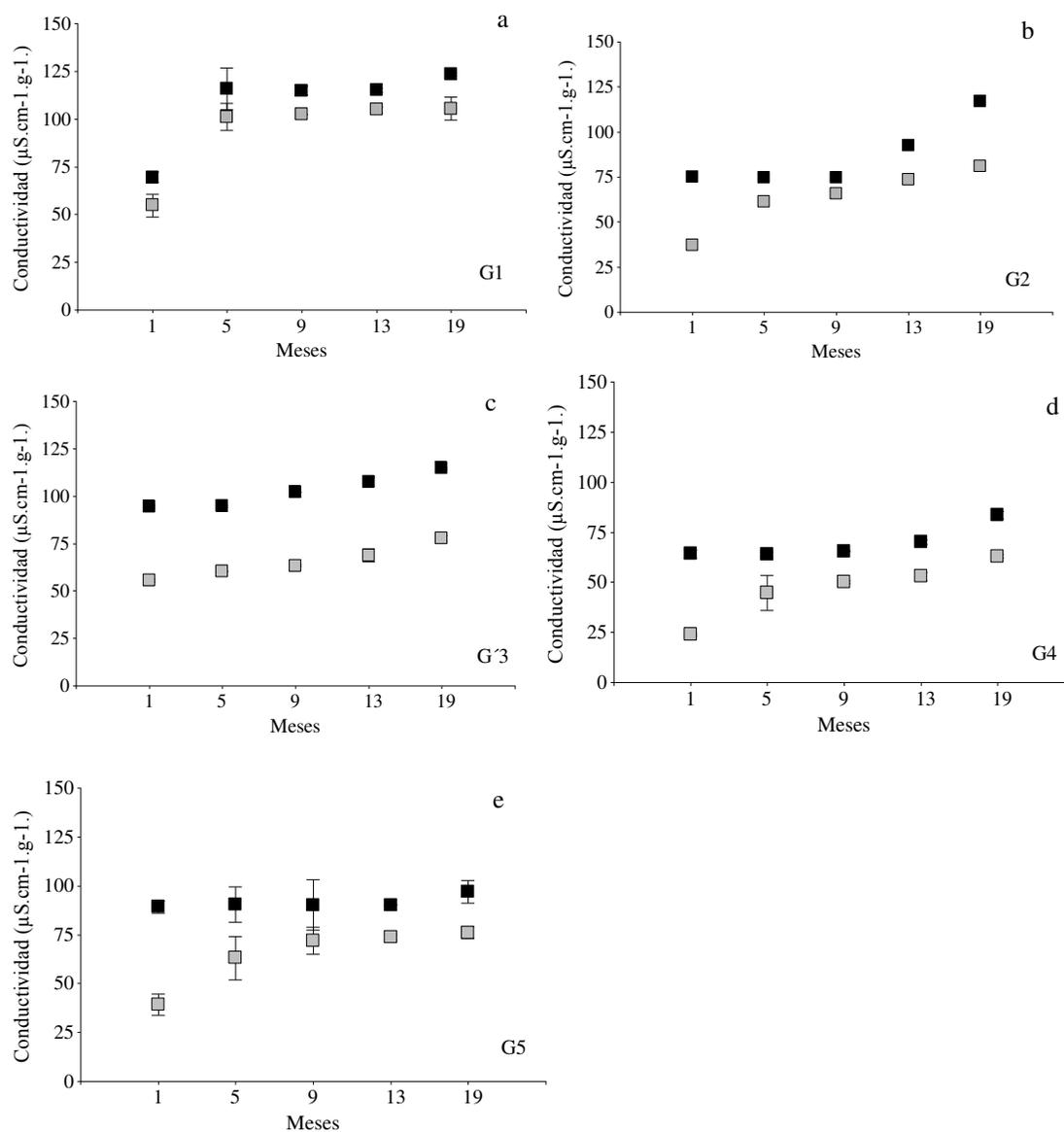


Figura 5.6. Evolución durante el almacenamiento del vigor mediante el test de Conductividad Eléctrica para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos negros) y el Control (símbolos negros) de 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7. Las barras muestran el error estándar.

La mayor germinación y vigor de las semillas desecadas con PAR contribuyó al mantenimiento de una alta calidad fisiológica durante el almacenamiento. Esto concuerda con los resultados de Pereira Da Silva (2011) en girasol y Domingos *et al.* (2000) en semillas de poroto. El PAR no ejerce efectos nocivos en la calidad de las semillas de

girasol durante el almacenamiento, por el contrario la beneficia. Es probable que la causa de esta mejora sea la mayor calidad inicial con la que parten las semillas desecadas, que se mantiene durante el almacenamiento. Se corroboró así, la tendencia observada en los capítulos previos acerca de la inexistencia de efectos tóxicos o potenciadores de las reacciones oxidativas del desecante, durante el deterioro de las semillas de girasol.

### **5.3.2 Efecto de las condiciones de almacenamiento**

La mejora en la germinación impuesta por el desecado con PAR se observó en todos los genotipos, tanto en el almacenamiento en galpón como en cámara (Figuras 5.7 y 5.8). Esta observación también corroboró el efecto benéfico del desecado con PAR sobre la calidad de las semillas híbridas de girasol, con independencia del tipo de almacenamiento.

No se detectaron diferencias en la germinación entre los tipos de almacenamiento (galpón vs. cámara) en ninguno de los experimentos, tratamientos ni genotipos. Estos resultados coinciden con lo hallado por De Oliveira Lins *et al* (2014) quienes tampoco hallaron diferencias en la germinación cuando las semillas se almacenaron a 10 y 25°. Solo se observó en G1 que la germinación medida a través del método de Pre-enfriado fue inferior con el almacenamiento en cámara (Figura 5.8 a). Esto puede atribuirse a la aparición de dormición secundaria como consecuencia del almacenamiento a bajas temperaturas en este genotipo (Rentería Com . Pers).

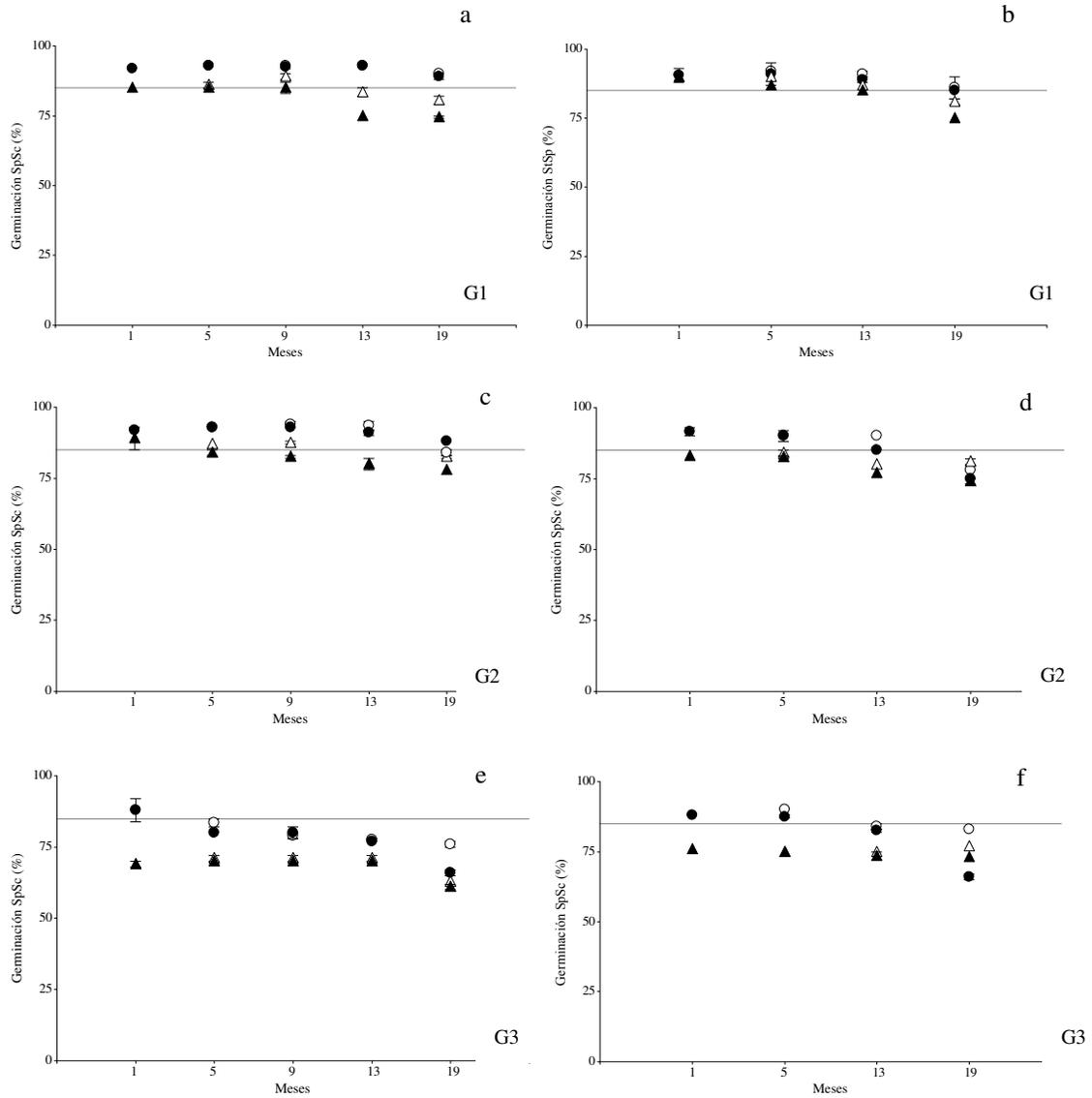


Figura 5.7. Evolución de la germinación sin pericarpio y sin cubierta seminal (SpSc) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25 °C (símbolos negros) Las líneas horizontales muestran el límite mínimo de comercialización para girasol (85%). Las barras muestran el error estándar.

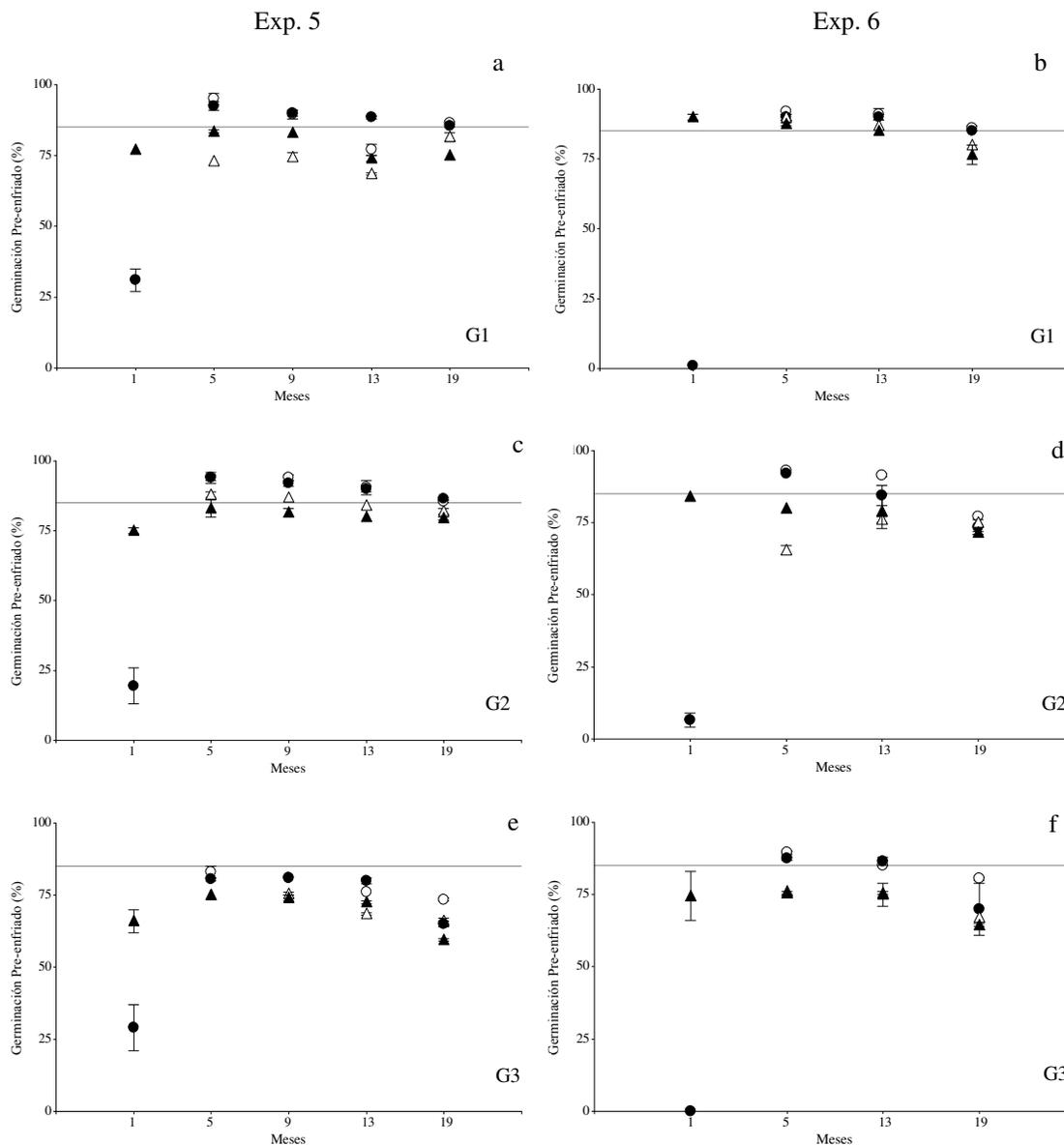


Figura 5.8. Evolución de la germinación (Pre-enfriado-ISTA) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25°C (símbolos negros). Nótese los bajos niveles de germinación del primer mes, debido a que no se eliminó la dormición en forma completa para dicho momento. Las líneas horizontales muestran el límite mínimo de comercialización para girasol (85%). Las barras muestran el error estándar.

La legislación argentina impide la comercialización de semillas con niveles de germinación por debajo del 85% (Res. 2270/93 SAGyP). Considerando este límite, existieron diferencias entre genotipos ya que en G1 y G2 el porcentaje de germinación se mantuvo por encima del 85% en los tratamientos desecados, incluso hasta después de los

19 meses de almacenamiento (Figuras 5.7 y 5.8). En cambio en los controles del genotipo alto oleico (G3) la germinación fue inferior a la permitida por la legislación desde el primer mes de almacenamiento (Figuras 5.7 y 5.8). Si bien estos porcentajes mejoran con el desecado, se observó que a los 5 meses (Exp. 5) y a los 13 meses (Exp. 6) de almacenamiento la germinación cayó por debajo del 85%, sin que el almacenamiento en condiciones controladas mejorara ese nivel.

El test de Tetrazolio no fue capaz de identificar diferencias en el vigor de las semillas causadas por el tipo de almacenamiento (galpón vs. cámara) en los Exp. 5 y 6 (Figura 5.9). Esto se observó tanto en los tratamientos de desecado como en los controles (Figura 5.9). Dicha tendencia no concuerda con lo hallado por Daltro *et al.* (2010) para quienes el test de Tetrazolio resultó útil para la detección de diferencias en el vigor de semillas de soja desecadas con glifosato, durante el almacenamiento.

A diferencia del test de Tetrazolio, la Conductividad Eléctrica sí detectó diferencias entre los tipos de almacenamiento (Figura 5.10).

El almacenamiento en cámara fría (10°C) mantuvo el vigor en niveles más elevados en los genotipos tradicionales (G1 y G2) desecados (Figura 5.10 a, b, c, d). Por el contrario, en el material alto oleico (G3) y en los controles de los tradicionales (G1 y G2) no se detectaron diferencias en el vigor de semillas entre cámara y galpón (Figura 5.10 e, f). Esto podría deberse al menor vigor inicial de G3 y de los tratamientos control. Dichos tratamientos parten de una calidad inferior, debido a su mayor tiempo de permanencia en el campo (Capítulo III), con valores de conductividad inicialmente mayores (Capítulo IV).

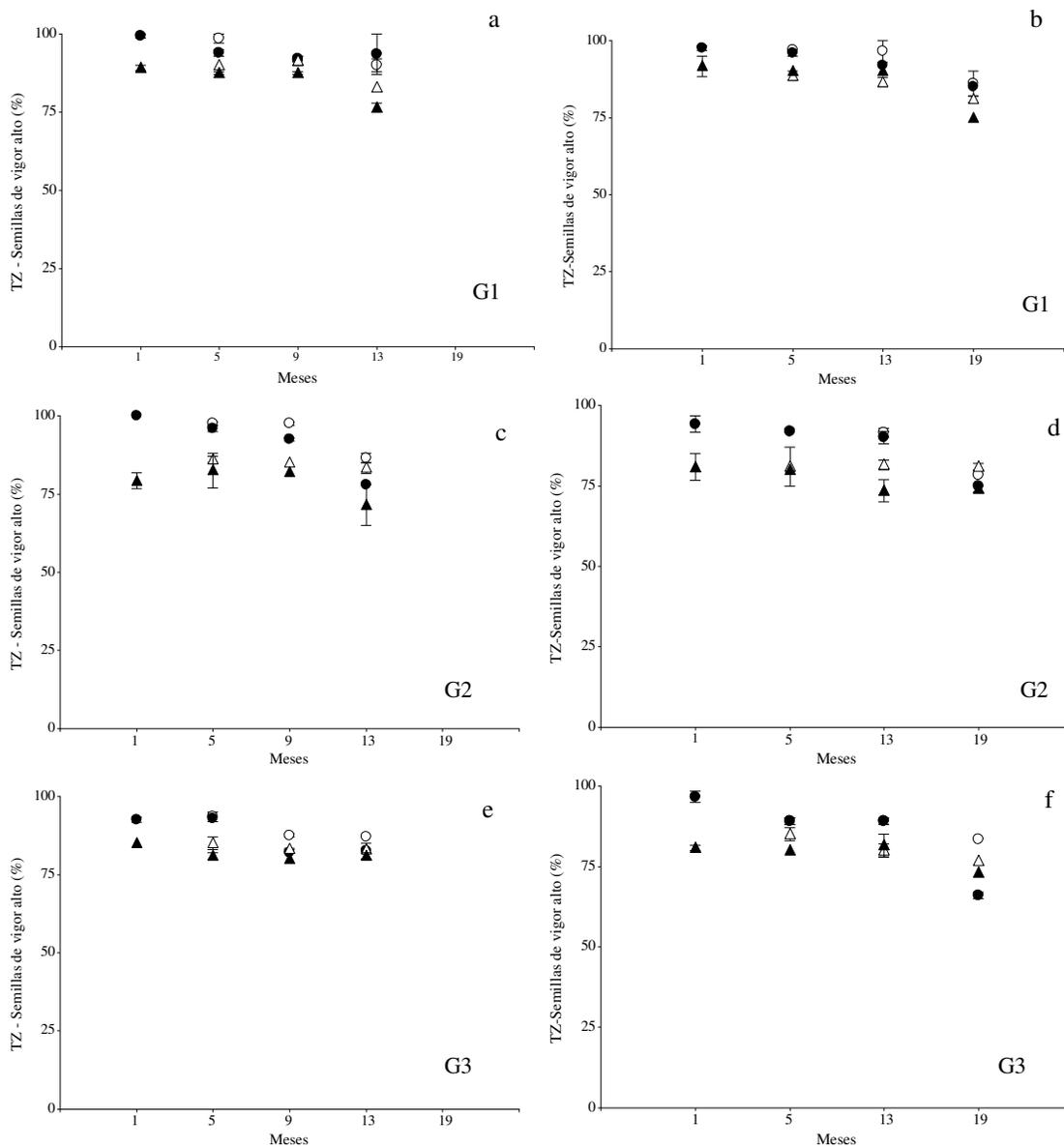


Figura 5.9. Evolución del vigor (Tetrazolio-TZ Semillas de vigor alto) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25°C (símbolos negros). Las barras muestran el error estándar.

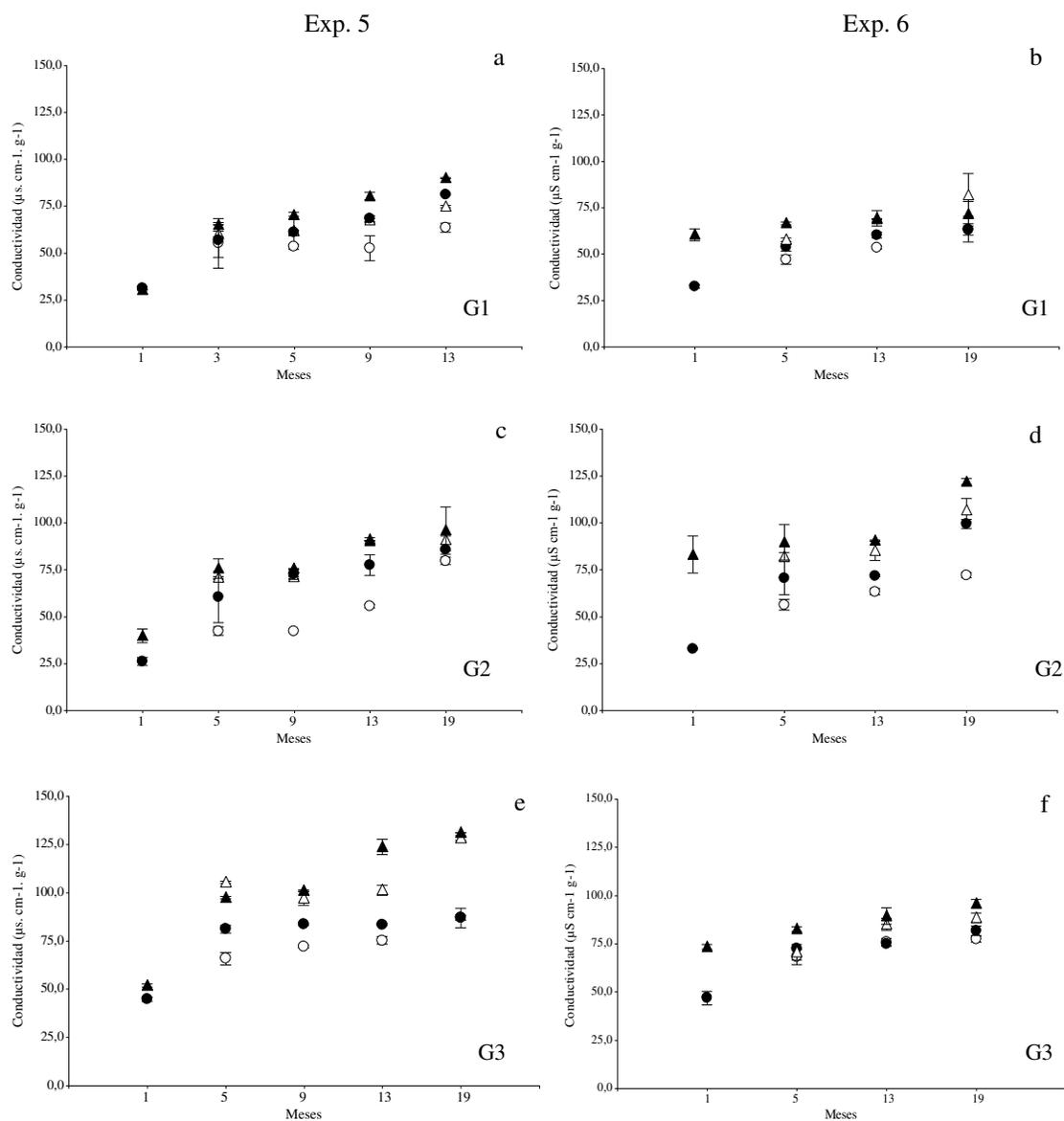


Figura 5.10. Evolución del vigor (Conductividad Eléctrica) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c, e) y 6 (b, d, f) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos) y galpón a 25°C (símbolos negros). Las barras muestran el error estándar.

Los beneficios del almacenamiento en cámara fría coinciden con Abreu *et al.*, (2013), Lima *et al.* (2014) y De Oliveira Lins *et al.* (2014) y se explican al considerar que las bajas temperaturas minimizan las reacciones químicas en general (Marcos Filho, 2005) y las de oxidación en particular (Balešević-Tubić *et al.*, 2005). De este modo se retrasa el proceso de deterioro y se extiende la viabilidad de las semillas (Mohammadi *et al.*, 2001).

Como demuestran los resultados de este capítulo, el almacenamiento en cámara beneficia el mantenimiento de la calidad de las semillas de girasol, solamente si estas presentan alto vigor inicial. Por el contrario, si se parte de semillas con bajo vigor (como en los controles y genotipos alto oleico), el almacenamiento en cámara no reporta mayores beneficios y no justificaría el mayor costo de almacenamiento en frío. Este conocimiento resulta de extrema utilidad para la industria de semilla, en la instancia de decidir qué partidas de semilla almacenar en cámara fría preferentemente.

La evolución de vigor a lo largo del tiempo siguió un patrón similar en las semillas desecadas y los controles, en ambos tipos de almacenamiento (Figura 5.11) observándose incrementos en los niveles de conductividad a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento. Para el conjunto de los genotipos y condiciones de almacenamiento, se observan dos momentos de mayor deterioro, al principio del almacenamiento (entre 1-5 meses) y al final del mismo (entre 13-15 meses) (Figura 5.11).

En un nivel más detallado, analizando las tasas de deterioro en % de Conductividad Eléctrica/mes, se observó que éstas fueron mayores dentro de los primeros 9 meses, con un pico máximo a los 5 meses de almacenamiento (Figura 5.12). De Oliveira Lins *et al.* (2014) también mencionan disminuciones significativas en los niveles de vigor en girasol a partir de los 4 meses de almacenamiento.

A su vez, la tasa de deterioro de las semillas desecadas fue mayor a los 5 meses de almacenamiento en galpón (Figura 5.12. a, c, e). En cambio en cámara fría fue similar o inferior que en los controles (Figura 5.12 b, d, e). Es posible que las variaciones en la humedad y temperatura de las condiciones de galpón, exacerben las reacciones metabólicas, aumentando las tasas de deterioro de las semillas desecadas, que se hallan minimizadas en el almacenamiento en cámara. Estas diferencias se reducen a partir de los 5 meses de almacenamiento. El aumento de la tasa de deterioro de las semillas desecadas, en los primeros meses de almacenamiento en galpón, es el único aspecto perjudicial del desecante hallado en la presente investigación.

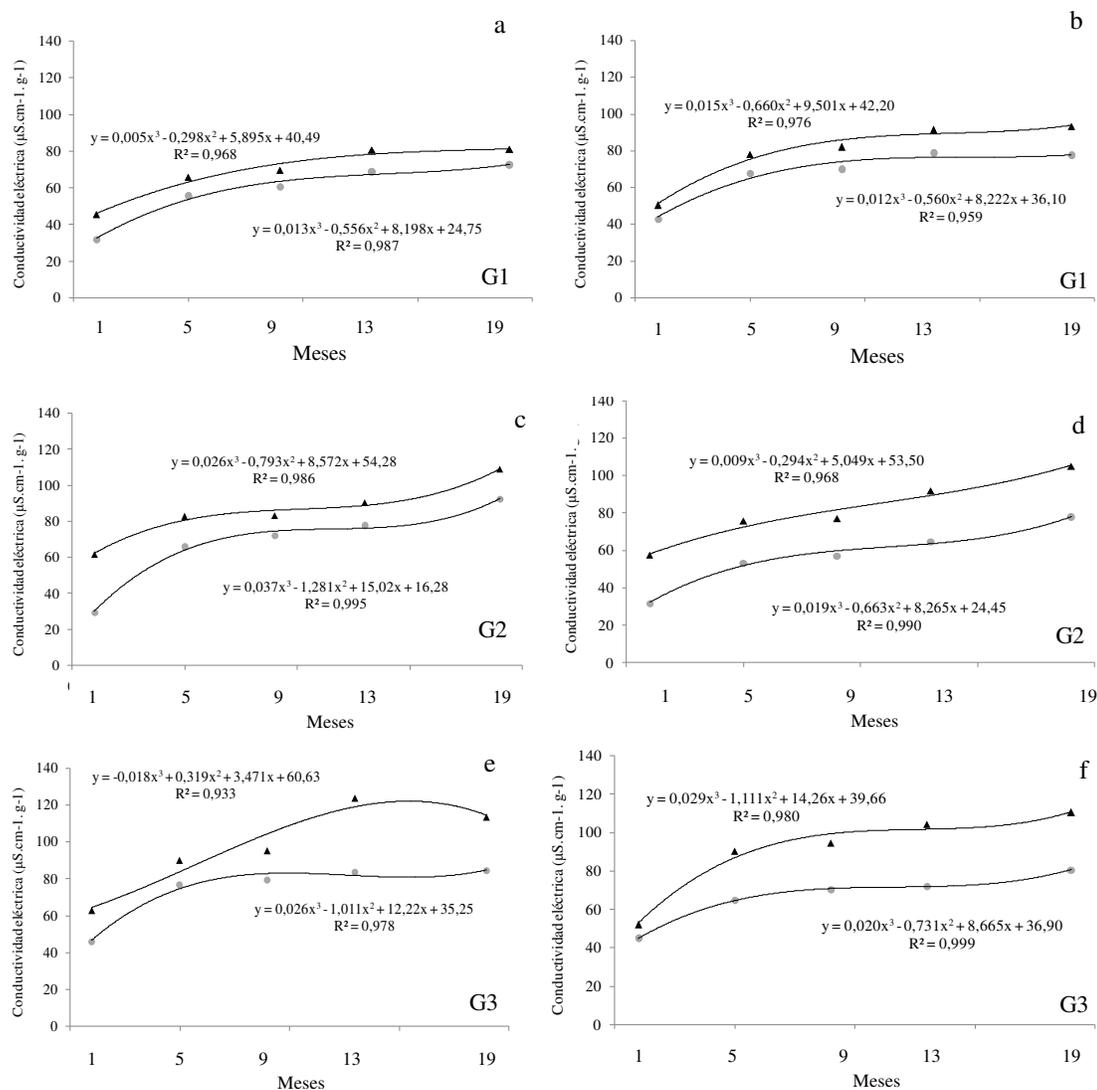


Figura 5.11. Evolución del vigor (Conductividad Eléctrica) durante el almacenamiento en galpón a 25°C (a, c, e) y cámara a 10°C (b, d, f) para el tratamiento con PAR (círculos grises) y el Control (triángulos negros) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto. Los valores representan el promedio de los experimentos 5, 6 y 7. Las barras muestran el error estándar.

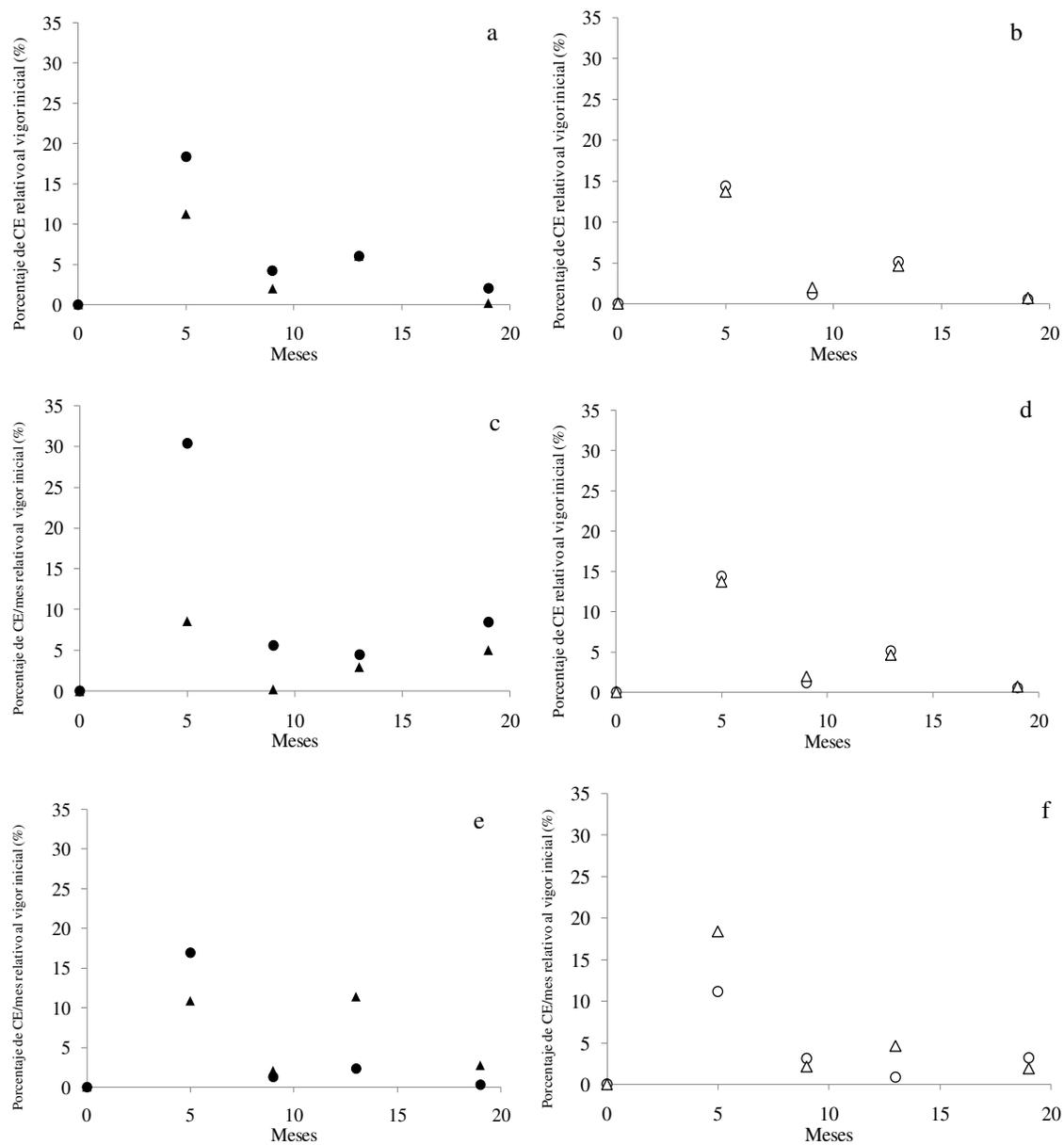


Figura 5.12. Tasa de deterioro (Porcentaje de Conductividad Eléctrica/mes) relativa al valor de vigor inicial (= 0%) para el tratamiento con PAR (círculos) y el Control (triángulos) del genotipo G1 (a, b), G2 (c, d) y G3 (e, f), durante el almacenamiento en galpón a 25°C (a, c, e) y cámara a 10°C (b, d, e), en Venado Tuerto. Los valores representan el promedio de los experimentos 5, 6 y 7.

### 5.3.3 Relación entre el deterioro y la composición química de las semillas .

En los Exp. 5 y 6 el contenido de aceite no se modificó con el tipo de almacenamiento (Tablas 5.1 y 5.2). El material alto oleico (G3) mostró contenidos de aceite significativamente superiores a G1 y G2. En cambio, en el Exp. 7, el material con mayor contenido de aceite fue G2 (Tabla 5.3.). Se observaron reducciones en el contenido de aceite a medida que transcurrió el tiempo, con diferencias entre los genotipos (Tablas 5.1, 5.2 y 5.3). Esta diferente sensibilidad de los genotipos para modificar su contenido de aceite a lo largo del tiempo coincide con lo hallado por Šimić *et al.* (2007).

Tabla 5.1. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5.

Genotipo	Almacenamiento	Aceite (%)				
		Meses				
		1	5	9	13	19
G1	Cámara		40 Ba	37 Cb	37 Cb	37 Cb
	Galpón	42 Ca*	42 Ca	36 Cb	37 Cb	38 Cb
G2	Cámara		44 Ba	44 Ba	44 Ba	44 Ba
	Galpón	47 Ba	46 Bab	45 Bab	44 Bb	45 Bab
G3	Cámara		53 Aa	49 Aa	50 Aa	51 Aa
	Galpón	52 Aa	52 Aa	50 Aa	50 Aa	51Aa
G				<0,0001		
A				0,2372		
M				<0,0001		
G x A				0,4831		
G x M				0,2876		
A x M				0,6064		
G x T x M				0,7758		

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), el tipo (A) y los meses de almacenamiento (M) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 5.2. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6.

Genotipo	Almacenamiento	Aceite (%)			
		Meses			
		1	5	9	19
G1	Cámara	--	40 Ca	34 Cb	35 Cb
	Galpón	41 Ba*	39 Ba	34 Cb	34 Cb
G2	Cámara	--	48 Ba	44 Bb	45 Bb
	Galpón	51 Aa	47 Bab	44 Bb	44 Bb
G3	Cámara	--	51 Aa	49 Aa	49 Aa
	Galpón	52 Aa	50 Aab	48 Ac	49 Abc
G				<0,0001	
A				0,2807	
M				<0,0001	
G X A				0,9901	
G X M				0,0205	
A X M				0,9922	
G X T X M				0,8799	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), el tipo (A) y los meses de almacenamiento (M) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

Tabla 5.3. Evolución del contenido de aceite durante el almacenamiento en cámara a 10 °C y galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 7.

Genotipo	Aceite (%)			
	Meses			
	1	9	13	19
G1	34 Da*	35 Ca	34 Da	35 Ca
G2	46 Aa	47 Aa	46 Aa	46 Aa
G3'	35 Ca	34 Da	35 Ca	35 Ca
G4	35 Ca	35 Ca	35 Ca	35 Ca
G5	37 Ba	37 Ba	37 Ba	38 Ba
G			<0,0001	
M			0,0207	
G x M			0,1229	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), los meses de almacenamiento (M) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

En cuanto al contenido de ácido oleico (Tabla 5.4), en el Exp. 5 se detectaron efectos significativos del genotipo y del tiempo de almacenamiento. En concordancia con su

composición genética, G3 mostró elevada concentración de ácido oleico que fue estable durante el almacenamiento. G1 y G2 mostraron una alta variabilidad en la concentración de oleico a lo largo de los meses (Tabla 5.4).

Tabla 5.4. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5

Genotipo	Almacenamiento	Oleico (%)				
		Meses				
		1	5	9	13	19
G1	Cámara		46 b	46 b	41 c	44 ab
	Galpón	50 a*	47 bc	44 c	42 bc	46 b
G2	Cámara		48 a	44 b	37 c	44 b
	Galpón	50 a	47 ab	45 bc	39 d	44 c
G3	Cámara		91 a	82 b	84 b	83 b
	Galpón	93 a	91 a	84 b	84 b	81 b
G				<0,0001		
A				0,8574		
M				<0,0001		
G X A				0,6449		
G X M				<0,0001		
A X M				0,6169		
G X T X M				0,7758		

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), los meses de almacenamiento (M) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

En el Exp. 6, se detectaron efectos significativos del genotipo, el tipo y el tiempo de almacenamiento y de la interacción G x M (Tabla 5.5). En cuanto a los efectos genotípicos, G3 matuvo la superioridad. En G1 el contenido de oleico disminuyó a los 9 meses en cámara, antes que en el galpón. G2 mostró mayor estabilidad a lo largo del tiempo y G3 mostró una importante disminución a los 9 meses de almacenamiento, tanto en cámara como en galpón.

Tabla 5.5. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25 °C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6.

Genotipo	Almacenamiento	Oleico (%)			
		Meses			
		1	5	9	19
G1	Cámara	--	52 Ba	48 Bb	50 Ba
	Galpón	53 Ba*	54 Ba	52 Ba	50 Bb
G2	Cámara	--	49 Ba	48 Ba	47 Ba
	Galpón	50 Ba	51 Ba	51 Ba	49 Ba
G3	Cámara	--	92 Aa	83 Ab	84 Ab
	Galpón	95 Aa	92 Ab	84 Ac	83 Ac
G			<0,0001		
A			<0,0001		
M			<0,0001		
G X A			0,0695		
G X M			<0,0001		
A X M			0,0126		
G X T X M			0,9661		

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), el tipo (A) y los meses de almacenamiento (M) y sus interacciones ( $P < 0,05$ ).

En el Exp.7, la concentración de ácido oleico de G3' y su iso línea G4 también fue congruente con su composición genética (Tabla 5.6). Los genotipos G2, G3' y G5 mostraron estabilidad en este parámetro durante el almacenamiento (Tabla 5.6). Por su parte, el contenido de ácido oleico de G1 y G4 sufrió una disminución significativa a partir del mes 9 (Tabla 5.6). Las variaciones en la concentración de ácido oleico a lo largo del tiempo y entre genotipos no coinciden con los hallado por Mourad *et al.* (2016) quienes mencionan una mayor estabilidad en la concentración de este ácido, tanto en el genotipo alto oleico como en los tradicionales.

Las asociaciones entre la concentración y composición de aceite (% de oleico) respecto de las variables de calidad de semillas (germinación y vigor) no mostraron patrones definidos ni altos coeficientes de determinación en ninguno de los experimentos (Tablas 5.7 a 5.9). Tampoco se observaron tendencias claras si las variables se evalúan separando los tipos de almacenamiento (datos no mostrados).

Tabla 5.6. Evolución del contenido de ácido oleico durante el almacenamiento en Cámara a 10 °C y Galpón a 25°C para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 7.

Oleico (%)				
Genotipo	Meses			
	1	9	13	19
G1	50 Da*	46 Db	45 Db	46 Db
G2	45 Ea	43 Da	42 Ea	43 Ea
G3	88 Aa	89 Aa	88 Aa	88 Aa
G4	75 Ba	72 Bab	71 Bb	73 Bab
G5	55 Ca	51 Ca	52 Ca	53 Ca
G	<0,0001			
M	0,0002			
G x M	0,7498			

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre meses de almacenamiento y mayúsculas entre genotipos. Se muestran valores del test ANDEVA para el genotipo (G), los meses de almacenamiento (M) y su interacción ( $P < 0,05$ ).

Tabla 5.7. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc y la Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 5 ( $p < 0,05$ ).

Genotipo	Germinación (Sp/Sc)	Conductividad Eléctrica	Aceite	Oleico
G1				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,12	0,01
Conductividad		1	0,26	0,01
Aceite			1	--
Oleico				1
G2				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,04	0,03
Conductividad		1	0,01	0,10
Aceite			1	--
Oleico				1
G3				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,11	0,10
Conductividad		1	0,06	0,25
Aceite			1	--
Oleico				1

Tabla 5.8. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc -Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimento 6 ( $p < 0.05$ ).

Genotipo	Germinación (Sp/Sc)	Conductividad	Aceite	Oleico
1				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,06	0,00
Conductividad		1	0,06	0,00
Aceite			1	--
Oleico				1
G2				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,05	0,02
Conductividad		1	0,07	0,02
Aceite			1	--
Oleico				1
G3				
Germinación (Sp/Sc)	1	--	0,02	0,09
Conductividad		1	0,04	0,00
Aceite			1	--
Oleico				1

Tabla 5.9. Coeficientes de correlación de Pearson entre la de calidad fisiológica (Germinación Sp/Sc y Conductividad Eléctrica) y la composición química (Contenido de aceite y Oleico) para 5 genotipos (G1 a G5) en Venado Tuerto, experimento 7 ( $p < 0.05$ ).

Genotipo	Germinación (SpSc)	Conductividad	Aceite	Oleico
G1				
Germinación (SpSc)	1	--	0,14	0,00
Conductividad Eléctrica		1	0,12	0,43
Aceite			1	--
Oleico				1
G2				
Germinación (SpSc)	1	--	0,01	0,02
Conductividad Eléctrica		1	0,00	0,01
Aceite			1	--
Oleico				1
G3'				
Germinación (SpSc)	1	--	0,04	0,1
Conductividad Eléctrica		1	0,01	0,48
Aceite			1	--
Oleico				1
G4				
Germinación (SpSc)	1		0,08	0,03
Conductividad Eléctrica		1	0,10	0,04
Aceite			1	--
Oleico				1
G5				
Germinación (SpSc)	1		0,03	0,01
Conductividad Eléctrica		1	0,06	0,07
Aceite			1	--
Oleico				1

Al considerar todos los genotipos, experimentos y tipos de almacenamiento (Figura 5.13) no se detectó una tendencia clara en la evolución de la germinación o la Conductividad Eléctrica al variar el contenido de aceite entre el 35 al 55% (Figura 5.13 a, b). El mismo comportamiento se observó con respecto al contenido de ácido oleico en el rango de 30 y 90% (Figura 5.13. c, d). De modo que, para el conjunto de datos evaluados, los cambios en el contenido de aceite u oleico durante el almacenamiento no se tradujeron en cambios en los niveles de germinación y el vigor en las semillas de girasol desecadas. A diferencia de lo mencionado por Balešević-Tubić *et al.*, (2005) y Ghasemnezhad y Honermeier (2007), estos resultados demuestran que no existieron cambios en la tolerancia al deterioro debidas a cambios en la concentración ni composición de aceite.

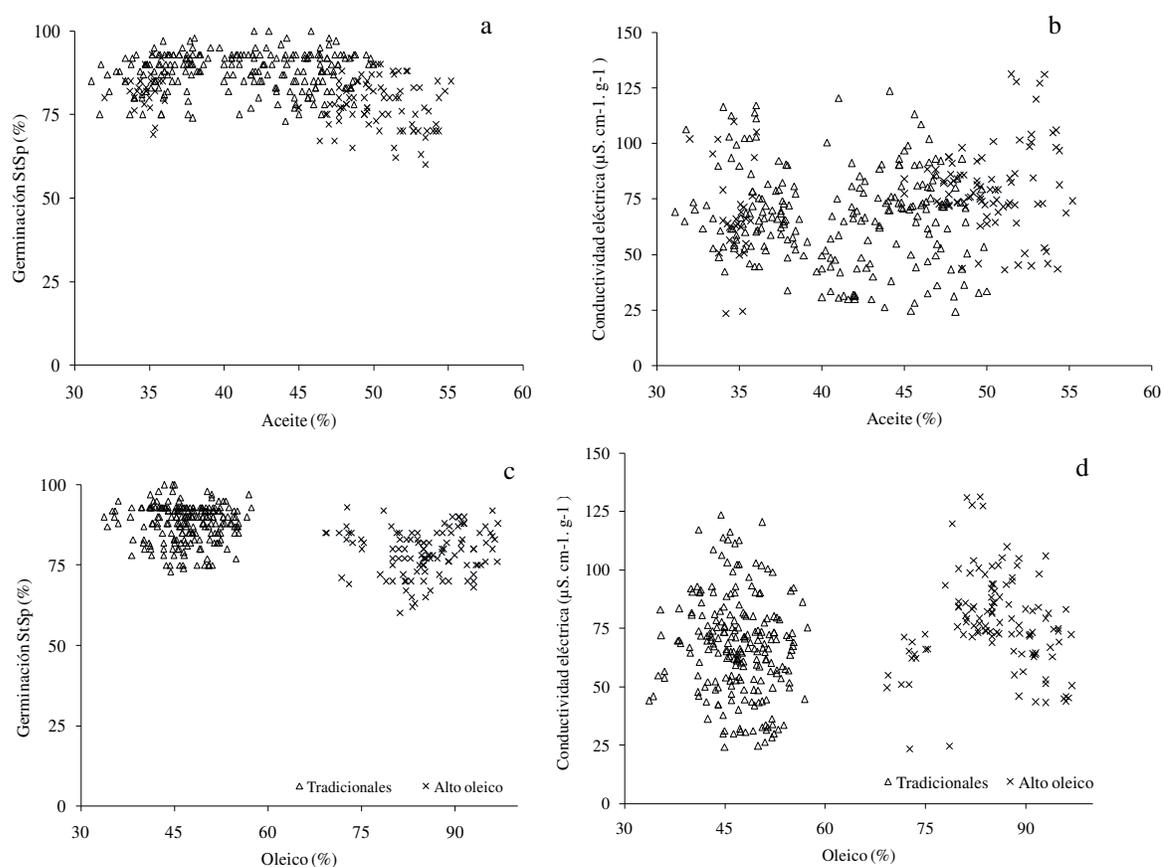


Figura 5.13. Relaciones entre la Germinación SpSp (a, c) y la Conductividad Eléctrica (b, d) con respecto al contenido de aceite (a, b) y oleico (c, d) en los genotipos G1 a G5 en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7. Los valores representan el promedio para los tratamientos de desecado.

En relación a la posible interacción entre el contenido de oleico y el deterioro ocasionado por el PAR se infiere que, para las condiciones de estos experimentos, los cambios en la calidad fisiológica de las semillas de girasol desecadas no pueden atribuirse a cambios en su composición acídica, descartando la hipótesis de un deterioro más lento en las semillas con altos contenidos de ácido oleico.

La falta de asociación entre la tasa de deterioro y el contenido de aceite o ácido oleico de las semillas de girasol, concuerda con Walters *et al.* (2005) quienes solo detectaron cambios significativos en el contenido de aceite y de ácidos grasos libres en las semillas de girasol que habían perdido completamente su viabilidad en el almacenaje. En forma semejante, Ravber *et al.* (2015) solo hallaron incrementos significativos en la concentración de ácidos grasos libres después de haber sometido a las semillas de girasol a condiciones extremas de temperaturas ( $>220^{\circ}\text{C}$ ), señalando que el aceite es el componente más estable en las semillas de girasol. Para Morscher *et al.* (2015) la pérdida de viabilidad de las semillas de girasol se asocia más con la oxidación de proteínas, que con la oxidación de lípidos.

Con respecto a las diferencias genéticas, las semillas de los genotipos alto oleico (G3 y G3') mostraron niveles de germinación y vigor significativamente menores, pero esta reducción no se asoció con la concentración de aceite o ácido oleico. Los tratamientos con PAR o el almacenamiento en frío no mitigaron esa menor calidad. Es posible que otras características genéticas de los materiales alto oleico ejerzan una influencia mayor en la calidad de estas semillas. Evaluaciones realizadas en períodos próximos a la cosecha observaron efectos relacionados a la anatomía de las cubiertas seminales y la relación de posición entre el pericarpio y la semilla (Hernández y Paoloni, 1998), el peso de las semillas (Murcia *et al.*, 2006), cambios en la transcripción y actividad de enzimas (Rodríguez-Rosales *et al.*, 1998; Martínez-Rivas *et al.*, 2001; Salas *et al.*, 2014), contenido y re-movilización de azúcares solubles y proteínas (Erbaş *et al.*, 2016), cambios en la tasa de degradación de triglicéridos (Aznar Moreno *et al.*, 2013) o variaciones en la temperatura base de germinación (Belo, *et al.*, 2014). Para jerarquizar cuáles de estas características fisiológicas son responsables de la menor germinación y vigor en los genotipos alto oleico,

sería importante estudiarlas en un grupo diverso de líneas iso-génicas para el carácter alto oleico (mayor al estudiado en esta tesis) y durante el almacenamiento prolongado.

Por otra parte, la pérdida en la calidad fisiológica a medida que transcurre el deterioro de las semillas puede analizarse siguiendo diferentes modelos. Uno de ellos es el de Delouche y Cadwel (1960) que representa la disminución en la germinación y la viabilidad a lo largo del tiempo, indicando que las pérdidas en el vigor ocurren mucho más rápido que las disminuciones en la germinación (Figura 1.2, Capítulo I). Este modelo aún no ha sido aplicado en girasol, por lo que el conjunto de datos analizados en este capítulo (3 experimentos, 5 genotipos, 2 tipos de almacenamiento y 3 tratamientos de desecado) sirvió para explorar la relación potencial que puede existir entre estas variables para la especie. Se identificó la relación existente entre la germinación y la Conductividad Eléctrica, observando aumentos en la conductividad (disminuciones en el vigor) a medida que se reduce la germinación con un  $R^2$  de 0,378 (Figura 5.14). La correlación entre la reducción de la germinación y el incremento en la conductividad también fue explorada en otros cultivos como trigo (Tajbakhsh, 2000), algodón (Goel y Sheoran, 2002), melón (Al-Maskri *et al.*, 2004) y repollo (Matthews *et al.*, 2009). Estas relaciones serán analizadas con mayor profundidad en el siguiente capítulo.

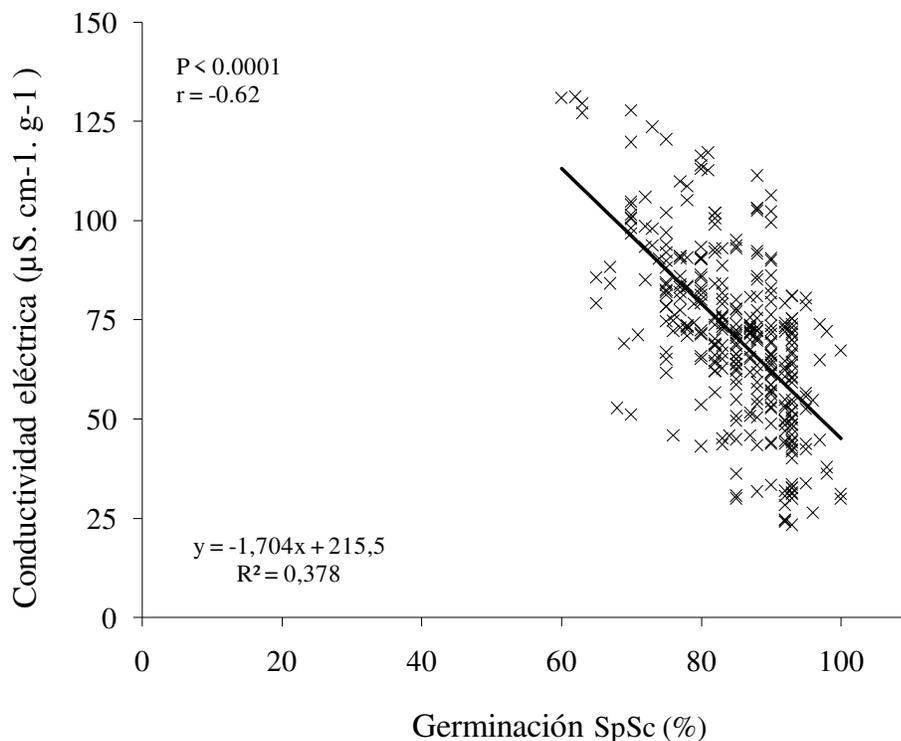


Figura 5.14. Relación entre la Conductividad Eléctrica y la Germinación SpSc en los genotipos G1 a G5 en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7 (n= 336).

Los resultados y tendencias obtenidas en este capítulo permitieron estimar valores para girasol de los parámetros del modelo teórico de caída del vigor propuesto por Delouche y Cadwel (1960). Concordando con este modelo teórico, la disminución en la germinación y la viabilidad a lo largo del tiempo siguió una curva de tipo sigmoidea. Se identificaron tres fases: i) una primer fase de pérdida rápida del vigor durante los primeros 5 meses de almacenamiento, ii) una segunda fase de estabilización hasta los 13 meses aproximadamente y iii) una tercer fase de pérdida rápida de vigor, posterior a este momento (Figura 5.11). Esta pérdida en los niveles de germinación y vigor coincide con los plazos establecidos por otros autores para la especie (Abreu *et al.*, 2013, De Oliveira Lins *et al.*, 2014, Lima *et al.*, 2014). Sin embargo en esta tesis se hallaron particularidades de los genotipos, experimentos, tratamientos de desecado y condiciones de almacenamiento, utilizando el test de Conductividad Eléctrica (Figura 5.11). Esto implica un avance en el conocimiento, en cuanto a: i) ajustar el modelo teórico de Delouche y Cadwel (1960) con datos reales observados en girasol y ii) parametrizar el modelo, iniciando los pasos

necesarios para la modelización de las funciones de respuesta de la calidad fisiológica de las semillas en función del tiempo calendario, a través de la observación directa durante el almacenamiento prolongado. Esta metodología directa es superadora de otras técnicas de envejecimiento acelerado, las cuales no han sido estandarizadas aún en girasol. El test de Conductividad Eléctrica presenta ventajas ya que: i) no se ve afectado por la dormición y ii) brinda resultados rápidos para la toma de decisiones y iii) su utilidad desde el punto de vista tecnológico en la industria de semillas en otras especies, como poroto, arveja y colza es indiscutida. En girasol el uso del test de Conductividad Eléctrica puede ser una herramienta muy promisoría para determinar el vigor en girasol.

#### **5.4 CONCLUSIONES**

La cosecha anticipada con PAR no perjudica la calidad fisiológica de las semillas de girasol durante el almacenamiento. Por el contrario, produce un menor deterioro, debido a la mayor calidad inicial con la que parten las semillas desecadas. El beneficio se mantiene con el almacenamiento en cámara solo si las semillas presentan alto vigor inicial.

La evolución de la calidad fisiológica de las semillas de girasol desecadas durante el almacenamiento no se atribuye a cambios su composición ácida, descartando un deterioro más lento en las semillas con altos contenidos de ácido oleico.

La menor calidad fisiológica de los genotipos alto y mid oleico podría deberse a otras características morfológicas o fisiológicas que aportan las líneas parentales.

## **CAPITULO VI**

### **VALIDACION DEL VIGOR A CAMPO EN SEMILLAS HIBRIDAS DE GIRASOL OBTENIDAS LUEGO DEL DESECADO QUIMICO**

## 6.1 INTRODUCCIÓN

La International Seed Testing Association, define al vigor como “la suma de las propiedades que determinan la actividad y performance de los lotes de semillas para una germinación aceptable en un amplio rango de ambientes”. Un lote de semillas se considera vigoroso si es potencialmente capaz de funcionar bien incluso bajo condiciones ambientales que no son óptimas para la especie (ISTA, 2015). En la actualidad se utilizan numerosos test de vigor, sin embargo solo unos pocos se encuentran estandarizados y son recomendados por las reglas de la ISTA. Es el caso de la Conductividad Eléctrica para poroto, arveja y colza, el envejecimiento acelerado para soja, el deterioro controlado en *Brassica* sp. y la aparición de la raíz primaria en maíz (ISTA, 2015). Es probable que en el futuro se incluyan otros métodos, ya que la investigación en éste área del conocimiento de semillas continúa siendo exhaustiva.

El vigor de las semillas de girasol ha sido evaluado a través distintos métodos como, la clasificación del crecimiento de las plántulas, el envejecimiento acelerado, la germinación en frío, el deterioro controlado, la energía germinativa, el test de Hiltner y la tinción con sales de Tetrazolio (Balešević-Tubić *et al.*, 2010; Braz *et al.*, 2008; Mrda *et al.*, 2010; Tatić *et al.*, 2012; De Oliveira *et al.*, 2012; Vijay *et al.*, 2015). Sin embargo aún no está disponible un test estandarizado que pueda ser usado como un adecuado predictor de la performance de las semillas a campo. Además, la clasificación del vigor puede variar ampliamente dependiendo no solo del test usado, sino también del genotipo (Mielezrski y Marcos-Filho, 2013). Asimismo, Balešević-Tubić *et al.* (2007) mostraron que la sensibilidad de la germinación en frío, el test de Hiltner y la clasificación de plántulas, cambian dependiendo del genotipo de girasol evaluado.

La Conductividad Eléctrica y el Tetrazolio constituyen test de vigor promisorios ya que producen resultados más rápidos (< 24 h) en comparación con otros test y pueden ser usados para acortar el período de decisión en las recomendaciones de siembra y venta de la industria de semillas (Silva *et al.*, 2013). Además no son afectados por la dormición y no requieren equipamiento sofisticado o personal altamente calificado.

### 6.1.1 Conductividad Eléctrica

El test de Conductividad Eléctrica tiene como objetivo evaluar el grado de daño causado en las membranas celulares como resultado del deterioro de las semillas (ISTA, 2015). Existen dos técnicas para medir la pérdida de electrolitos por parte de las semillas, la Conductividad Eléctrica *masal* e *individual*. En el primer caso, se evalúa la pérdida de un conjunto de semillas colocadas en un mismo recipiente (ISTA, 2015). En cambio la evaluación de la Conductividad Eléctrica *individual* requiere equipamiento específico con celdas y electrodos para cada una de las semillas (Analizador SAD 9000 INTA-Consultar, 2017). A excepción de los cultivos para los cuales la Conductividad Eléctrica *masal* ya se encuentra estandarizada por la ISTA, en el resto de los cultivos la técnica y la eficiencia de este test aún es motivo de constante investigación. Matthews y Powell (2006) destacan su potencialidad como una medida rápida y repetible de vigor siendo un aporte valioso en la producción y comercialización de semillas. También, subrayan la necesidad continuar investigaciones acerca de procedimientos de estandarización dentro y entre laboratorios y la correlación con la emergencia a campo. Sivritepe *et al.* (2015) resaltan las ventajas del test de Conductividad Eléctrica en semillas de maíz en comparación con la germinación en frío y el test de emergencia de radículas, dada la rapidéz en la obtención de resultados. Indican además que requiere ser probado en gran cantidad de genotipos, lotes y laboratorios. La eficiencia del test de Conductividad Eléctrica para discriminar el vigor de las semillas también fue probada en maíz dulce (Ribeiro *et al.*, 2009). Ramos *et al.* (2012) prueban su efectividad, confirmándola con resultados similares en el test de Tetrazolio en semillas de *Kielmeyera coriácea* Mart. En soja, ha sido eficiente en la clasificación de lotes incluso en semillas tratadas con insecticidas y fungicidas (Brzezinski *et al.*, 2015). En maní fue útil para discriminar diferencias entre variedades con una elevada correlación a campo (Bajpai *et al.*, 2016).

#### 6.1.1.1 Conductividad Eléctrica en semillas de girasol

Los resultados del test de Conductividad Eléctrica pueden ser afectados por el genotipo, la integridad, el tamaño de las semillas, su contenido de humedad, así como por el período y la temperatura de inmersión (Carvalho *et al.*, 2009). En girasol la pérdida de electrolitos desde el pericarpio o los cambios en su permeabilidad pueden interferir con los exudados provenientes de los tejidos propios del embrión (Del Longo *et al.*, 1999; Queiroga y Duran, 2010) y producir resultados contradictorios en el laboratorio (Albuquerque *et al.*, 2001). Braz *et al.* (2008) y De Oliveira *et al.* (2012) incrementaron el valor predictivo del test de Conductividad Eléctrica en semillas de girasol utilizando el procedimiento de descascarado (sin pericarpio). Debido a su permeabilidad selectiva, la remoción del pericarpio y la cubierta seminal pueden ser consideradas como una forma efectiva para romper la dormición (como se demostró en el Capítulo III). Por lo que el uso de semillas descascaradas, resulta útil para eliminar tanto la interferencia de los electrolitos del pericarpio, como la dormición de las semillas.

#### 6.1.1.2 Categorías de vigor en base al test de Conductividad Eléctrica

La correlación entre la reducción de la germinación y el incremento en la Conductividad Eléctrica ha mostrado ajustes que varían entre un 4 y un 89 % en diversos cultivos como maíz (Viloria y Méndez, 2011), trigo (Tajbaksh, 2000), algodón (Goel y Sheoran, 2002), poroto (Mora *et al.*, 2012), melón (Al-Maskri *et al.*, 2004), repollo (Matthews *et al.*, 2009), jute (Hossain *et al.*, 2013), radicheta (Demir, 2012; Mavi *et al.*, 2010) y cártamo (Kaya, 2014). En arveja Veselova *et al.* (2015) identificaron las categorías de semillas fuertes, débiles y muertas a partir establecer rangos definidos de Conductividad Eléctrica para cada nivel de germinación. En soja, los rangos de conductividad han sido establecidos por Vieira (1994) y en maíz por Ocvirk *et al.* (2014), permitiendo una adecuada clasificación de los lotes de acuerdo a su vigor. En semillas de girasol dichos rangos fueron establecidos por Szemruch *et al.* (2015) identificando a las semillas de vigor alto cuando la Conductividad Eléctrica fue  $<70 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , de vigor medio cuando se encontraba entre 70 y  $110 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , de vigor bajo cuando la Conductividad Eléctrica fue  $>110 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  e inadecuadas para la siembra cuando la Conductividad Eléctrica era  $>160 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  (Figura 6.1).

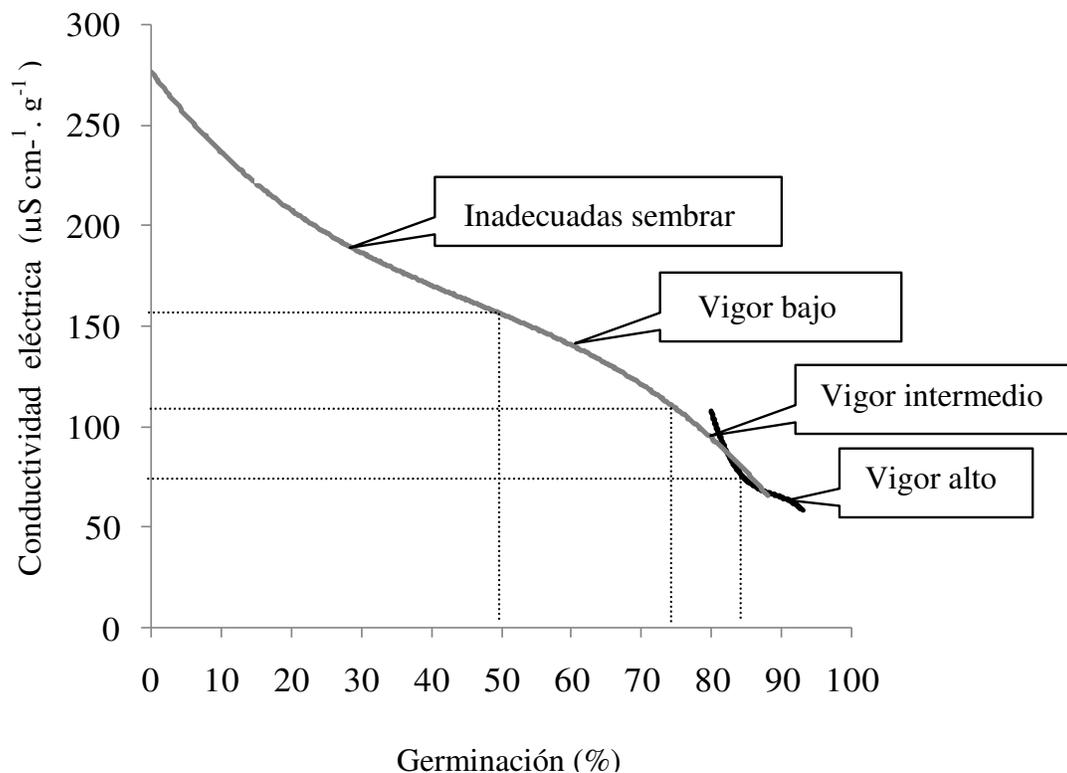


Figura 6.1. Categorías de vigor para semillas de girasol (líneas punteadas horizontales) en base a la relación entre la germinación y la Conductividad Eléctrica (Szemruch *et al.*, 2015). Modelo ajustado para un  $n = 420$ .

### 6.1.2 Test de Tetrazolio

El test de Tetrazolio se basa en la hidrogenación de las sales delcloruro de 2, 3, 5 – trifenil Tetrazolio en contacto con las células vivas, dando como resultado una coloración rosada de los tejidos. La coloración, su intensidad y la presencia de áreas necróticas permiten clasificar a las semillas según su viabilidad (ISTA, 2015). Es usado principalmente cuando las semillas han sido recién cosechadas, presentan profunda dormición o para detectar distintos tipos de daños durante la cosecha o procesamiento (ISTA, 2015). También se ha empleado para estimar el vigor en semillas algodón, maní, poroto, maíz y soja (Marcos-Filho, 2015). En este último cultivo, las investigaciones han

sido exhaustivas identificando cinco categorías de vigor (França-Neto y Krzyzanowski, 2009). En la actualidad el comité de Tetrazolio de la ISTA trabaja arduamente para incorporarlo como una técnica estandarizada en las normas internacionales (ISTA, 2015). En girasol, Murcia *et al.* (2003) encontraron que el daño evidenciado por el tejido de las semillas mediante el test de Tetrazolio no se asoció con los patrones de deterioro causados por el envejecimiento acelerado.

### **6.1.3 Emergencia a campo de las semillas de girasol cosechadas luego del desecado químico**

A pesar de las numerosas interacciones que existen entre la performance de las semillas y el ambiente que las rodea, los test de vigor deben ser capaces de estimar el comportamiento a campo de las semillas (Marcos-Filho, 2015). Las referencias bibliográficas del efecto del desecado de las líneas parentales femeninas en la emergencia a campo de las semillas de girasol son escasas. Liović *et al.* (2008) hallaron una mejora significativa en la emergencia de semillas de girasol cosechadas luego del desecado con Diquat, mientras que las cosechadas luego del desecado con Dimethipin no se diferenciaron del control en su desempeño a campo.

A esto se le suma un grado de complejidad mayor si se considera que en la actualidad, tampoco existe consenso sobre cuál es el mejor estimador del vigor a campo de las semillas de girasol. Encontrando formas diversas para su determinación que varían de acuerdo con la bibliografía consultada o el protocolo de las compañías semilleras.

Para que un test de vigor sea considerado efectivo en la estimación de desempeño de las semillas a campo y en la selección de los lotes debe ser altamente sensible y proveer una identificación precisa de las diferencias en la calidad fisiológica de las semillas (ISTA, 2015). Por lo que resulta conveniente probar su eficiencia para discriminar diferencias cuando las semillas son sometidas a condiciones contrastantes durante el crecimiento, maduración, cosecha y almacenamiento.

Los objetivos e hipótesis del presente capítulo fueron:

**Objetivo 6.1:** Comparar la capacidad de los test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio para discriminar el vigor de las semillas de girasol luego de tratamientos con desecado químico, en diferentes genotipos y condiciones de almacenamiento.

**Hipótesis 6.1:** El genotipo y las condiciones de cosecha o almacenamiento, pueden modificar la eficiencia de los test de los test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio.

**Objetivo 6.2:** Estimar la emergencia a campo de las semillas de girasol desecadas.

**Hipótesis 6.2:** La alta variabilidad ambiental de las condiciones de campo, enmascara el efecto beneficioso de la cosecha anticipada y produce similar velocidad de emergencia en las semillas desecadas y no desecadas.

**Hipótesis 6.3:** La estimación de la emergencia a campo de las semillas de girasol desecadas puede mejorarse si se selecciona una metodología que considere la variabilidad ambiental.

## 6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.2.1 Material vegetal, condiciones de experimentación y tratamientos

Para llevar a cabo el primero de los objetivos y facilitar el análisis de la sensibilidad de los test, solo compararon los tratamientos que se listan a continuación:

- Experimentos: 5 y 6
- Genotipos: G1, G2 y G3
- Tratamientos de desecado: PAR, CM y Control
- Tratamientos de almacenamiento: Galpón (Condiciones no controladas) a  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$  y 30-70 % de humedad relativa (HR) y Cámara de frío (Condiciones controladas) a  $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y 60% de HR
- Tiempos de almacenamiento: 1, 5, 9, 13 y 19 meses

## 6.2.2 Variables medidas

### *Análisis de laboratorio*

*Acondicionamiento de las semillas:* las semillas sin pericarpio y sin cubierta seminal (SpSc) se obtuvieron de acuerdo con Braz *et al.* (2008) y Szemruch *et al.* (2014) respectivamente.

*Germinación (G):* cuatro repeticiones de 50 semillas SpSc fueron incubadas entre sustrato papel humedecido con agua destilada (ISTA, 2010) y colocadas en cámara a 25°C y 12 h de alternancia luz/oscuridad. El porcentaje de germinación se calculó según ISTA (2010).

### *Vigor:*

- i) Conductividad Eléctrica: determinadas sobre 4 repeticiones de 50 semillas, según Braz *et al.* (2008) y expresada en  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . La comparación entre los tratamientos se realizó en base a las categorías de vigor establecidas en Szemruch *et al.* (2015).
- ii) Test de Tetrazolio (TZ- Semillas de vigor alto), determinado sobre 4 repeticiones de 50 semillas según la adaptación de Gallo *et al.* (2012) y expresadas en porcentaje.

### *Emergencia a campo*

Para llevar a cabo el segundo de los objetivos y facilitar el análisis de la emergencia a campo se compararon los siguientes tratamientos:

- Experimentos: 3, 4 y 7.
- Genotipos: G1, G2, G3, G3', G4 y G5.
- Tratamientos de desecado químico: PAR, Saflufenacil y Carfentrazone en los Exp. 3 y 4, PAR en los Exp. 5, 6 y 7 y sus respectivos controles.
- Tiempos de almacenamiento: se utilizaron semillas con 6 y 19 meses de almacenamiento según lo descrito en los experimentos 3, 4 y 7.

En los ensayos de emergencia a campo, las semillas fueron sembradas sobre un suelo Argiudol típico, en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (FCA-UNLZ) el 15 de septiembre de 2014 y el 22 de octubre de 2015. Se utilizaron 3 repeticiones de 50 semillas en surcos de 5 m. de largo, distanciados a 0,25 m y colocadas a una profundidad de 5 cm. No se aplicaron tratamientos químicos a las semillas (fungicidas o insecticidas), ni se realizó fertilización. Los datos meteorológicos fueron obtenidos a partir de una estación automática (INTA, Nimbus THP) ubicada en el campo experimental de la FCA-UNLZ. No se realizaron suplementaciones de agua con riego. El año 2014 fue neutro a Niño y el 2015 fuertemente niño, en según el fenómeno ENOS (El Niño Oscilación Del Sur) (IRI, 2016).

El vigor a campo fue estimado mediante las siguientes variables, mencionadas en la bibliografía y utilizadas por las industrias semilleras:

- i) Porcentaje de emergencia, mediante la cantidad de plantas emergidas en relación al total sembrado, expresado en porcentaje. Una planta se consideró emergida cuando los cotiledones se encontraban expandidos por encima del suelo (V cotiledonar según la escala de Schneiter y Miller, 1981).
- ii) Altura en los estadios de V2 y V4 (según la escala de Schneiter y Miller, 1981). Esta metodología es la utilizada habitualmente por la empresa proveedora del material genético (Renteria, Com. Pers.)
- iii) Velocidad de emergencia, según la fórmula de Maguire (1982). Esta variable se expresó en:
  - Plántulas por día cronológico (plántulas/día),
  - Plántulas por grados centígrados día (plántulas/°Cd): con los días expresados en tiempo térmico y calculados como la sumatoria de la temperatura media – la temperatura base. Se empleó una temperatura base de 6°C de acuerdo con Aguirrezábal *et al.* (2003).
  - Grados centígrados día necesarios para formar una plántula (°Cd/plántula): calculada como la inversa de la variable plántulas por grados centígrados día (1/ plántulas/°Cd).

### 6.2.3 Análisis estadístico y diseño experimental

El diseño de los experimentos 3 a 7 se detalló en los capítulos II y III. En el experimento a campo el diseño experimental fue completamente aleatorizado (DCA). Los datos se analizaron mediante ANDEVA y las medias se separaron mediante LSD ( $p < 0,05$ ). La asociación entre el análisis entre el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica) y la emergencia a campo se utilizó un análisis de correlación de Pearson. Previo a los análisis, los valores expresados en porcentaje fueron transformados por arcoseno (Little, 1985). La variabilidad entre las repeticiones se determinó mediante el cálculo del error estándar. Es posible que en las figuras algunas barras error no se vean porque son más pequeñas que el tamaño de símbolo elegido. Se considera que dos puntos difieren en forma significativa cuando las barras de error estándar no se tocan entre sí (Cumming *et al.*, 2007). Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008).

## 6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.3.1 Sensibilidad de los test de vigor

La Conductividad Eléctrica diferenció el vigor entre los genotipos de girasol evaluados (Figura 6.2 a, b). En el Exp. 5, los materiales G1 y G2 evidenciaron niveles más altos de vigor ( $< 70 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) hasta los 13 meses de almacenamiento (Figura 6.2 a). En cambio, las semillas de G3, presentaron un vigor medio ( $>70 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) antes de comenzar los 5 meses de almacenamiento (Figura 6.1 a). En el Exp. 6 la calidad de G3 también fue menor, con niveles de vigor medio a partir de los 5 meses de almacenamiento (Figura 6.2 b). En el mismo experimento, G2 mostró niveles de vigor medio a partir del 5° mes. Mientras que G1 presentó el mayor vigor durante todo el período de almacenamiento (Figura 6.2 b), con valores de CE menores a  $70 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ .

El test de TZ –V expresó la misma tendencia que la conductividad, ya que el ranking entre genotipos fue similar en ambos experimentos (Figura 6.2 c, d). Sin embargo la sensibilidad de este test para detectar diferencias entre ellos fue menor que la del test de Conductividad Eléctrica. En el Exp 5. sólo se detectan diferencias significativas en el mes 9

(Figura 6.2 c) y en el Exp 6., las diferencias son significativas solo a favor de G1 (Figura 6.2 d). Según Ramos *et al.* (2012) y Bajpai *et al.* (2016) tanto el test de conductividad como el test de Tetrazolio fueron capaces de discriminar el vigor entre genotipos. Sin embargo en nuestros experimentos, la Conductividad Eléctrica fue más sensible para discriminar el vigor entre los genotipos de girasol (Figura 6.2 a, b).

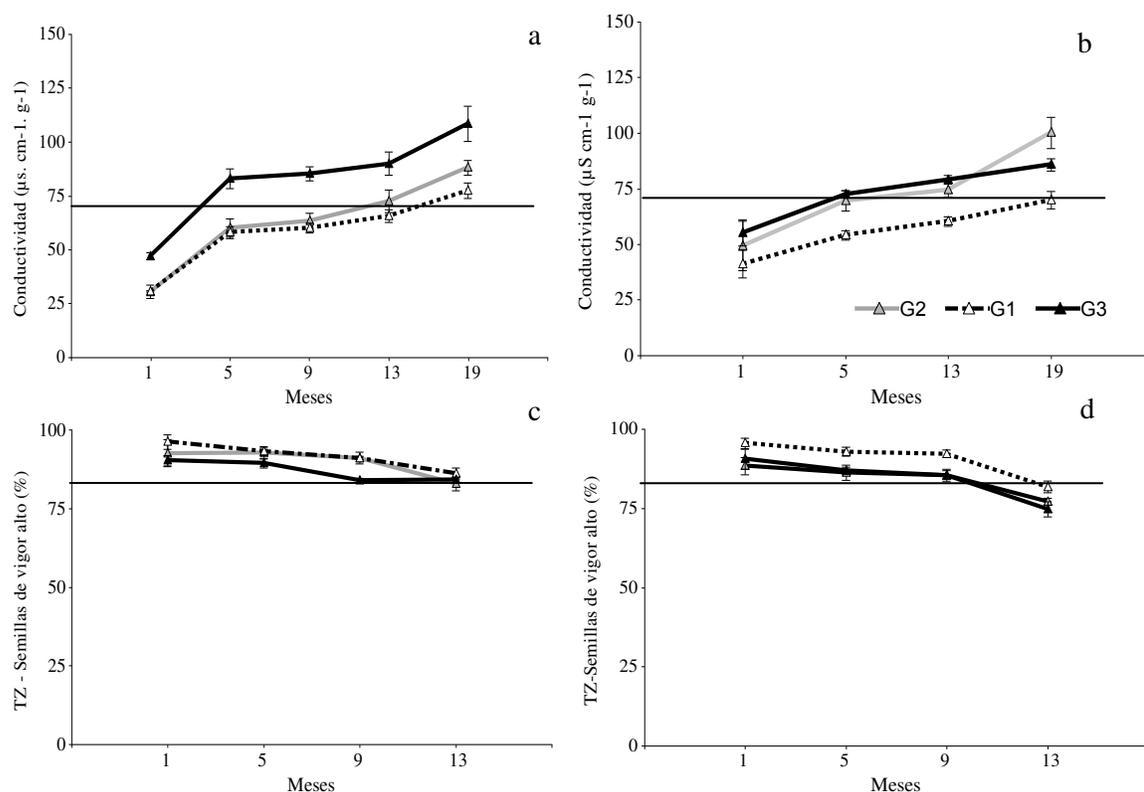


Figura 6.2. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) de 3 genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento. Los valores representan el promedio para los tratamientos de desecado. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch *et al.*, 2015) y en los paneles c y d, el 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio.

La capacidad de detectar diferencias entre tratamientos de desecado químico con PAR fue similar entre los test de Conductividad Eléctrica y Tetrazolio (Figura 6.3). Según el test de Conductividad Eléctrica, los tratamientos con PAR mostraron alto vigor ( $< 70$

$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) durante los primeros 13 meses de almacenamiento en ambos experimentos (Figura 6.3 a, b). Según el test de Tetrazolio, los tratamientos con PAR tuvieron más de un 80 % de semillas con vigor alto durante los primeros 13 meses de almacenamiento (Figura 6.3 c, d).

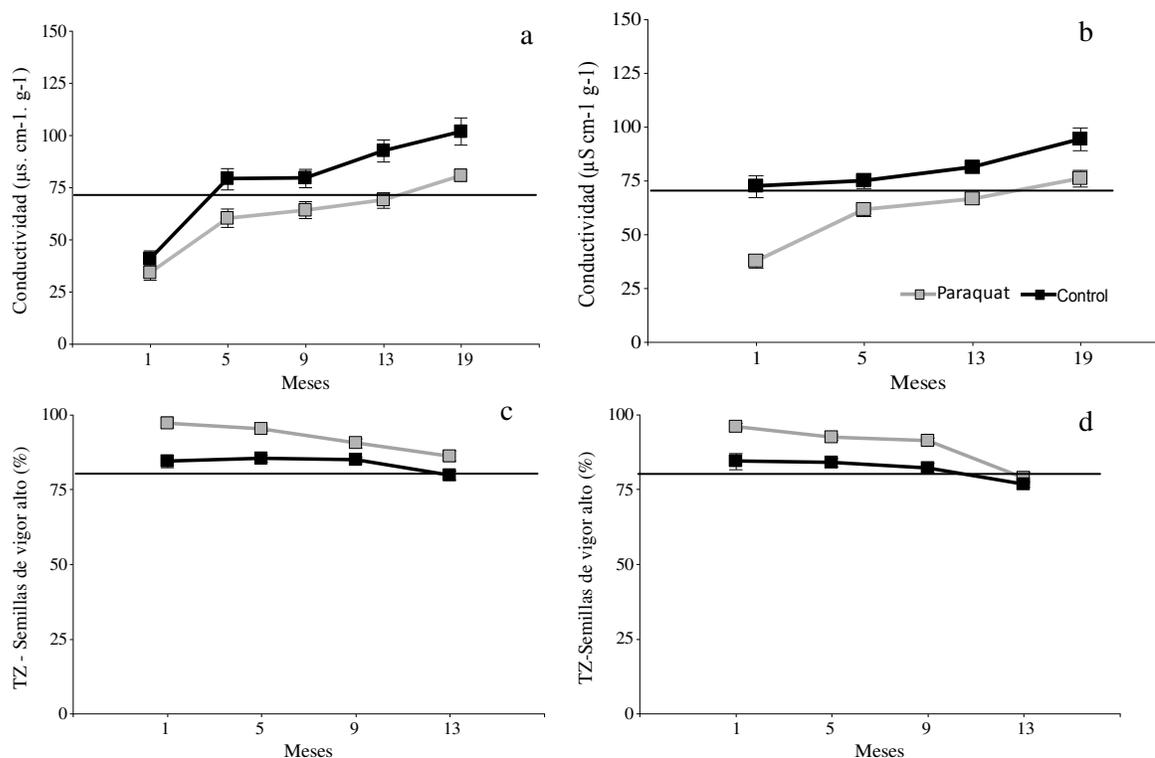


Figura 6.3. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) en Venado Tuerto, experimentos (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento para el tratamiento de desecado con PAR (símbolos grises) y el Control (símbolos negros). Los valores representan el promedio para los genotipos G1 a G3. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch *et al.*, 2015) y en los paneles c y d, el 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio.

La Conductividad Eléctrica diferenció mejor las condiciones de almacenamiento que el test de Tetrazolio (Figura 6.4).

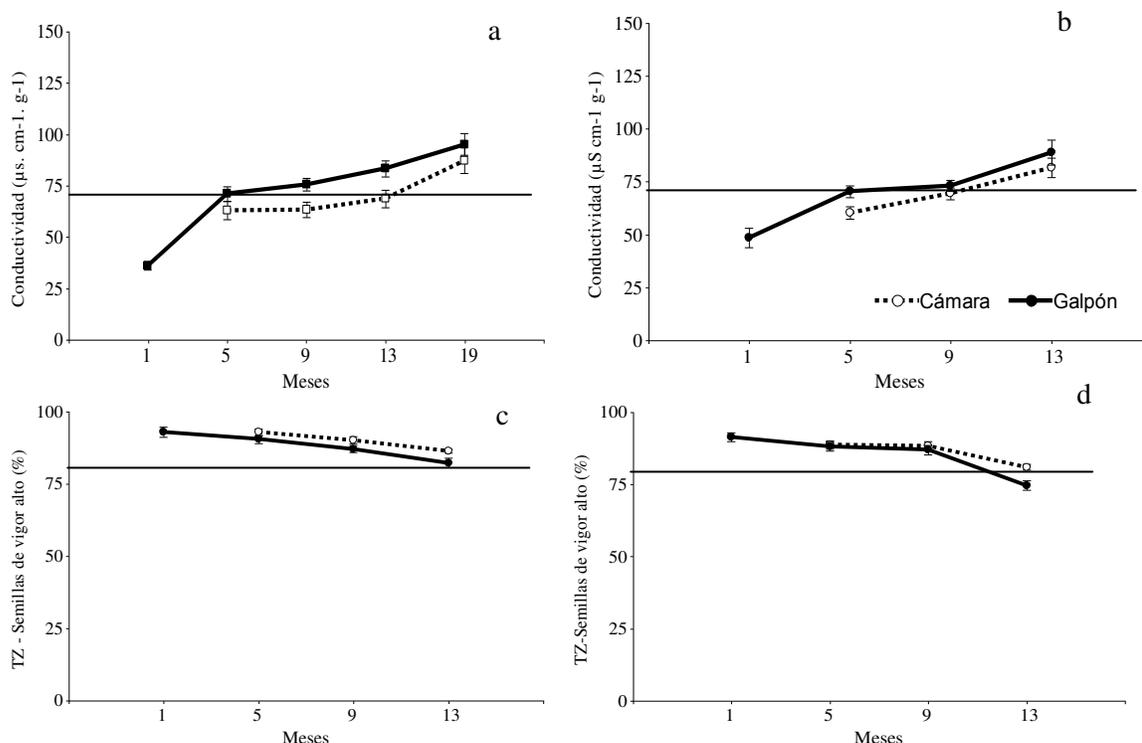


Figura 6.4. Evolución del vigor mediante los test de Conductividad Eléctrica (a, b) y Tetrazolio (TZ-Semillas de vigor alto) (c, d) en Venado Tuerto, experimentos 5 (a, c) y 6 (b, d) durante el almacenamiento en cámara a 10°C (símbolos blancos, línea punteada) y galpón a 25°C (símbolos negros, línea continua). Los valores representan el promedio para los genotipos (G1 a G3) y tratamientos de desecado. Las barras verticales muestran el error estándar. Las líneas horizontales en los paneles a y b indican el valor de Conductividad Eléctrica para las semillas de alto vigor (Szemruch *et al.*, 2015) y en los paneles c y d al 80% de semillas con vigor alto según el Test de Tetrazolio.

El test de Conductividad Eléctrica fue sensible para monitorear el deterioro de las semillas en el almacenamiento en galpón, mostrando valores significativamente más altos (menor vigor) que las condiciones de cámara fría, principalmente en el Exp. 6 (Figura. 6.4 a). Algunos autores cuestionan la habilidad del test de Conductividad Eléctrica para monitorear el deterioro de las semillas en el almacenamiento a bajas temperaturas, sugiriendo que ocurre estabilización de las membranas, lo que puede resultar en una menor pérdida de electrolitos (Fessel *et al.*, 2010). Contrariamente otros autores recomiendan este test de vigor para la evaluación incluso a bajas temperaturas de almacenamiento (Panobianco *et al.*, 2007; Mielezski y Marcos-Filho, 2013; Marques *et al.*, 2014). Abreu *et al.* (2013) indicaron que la habilidad del test de Conductividad Eléctrica para detectar la

pérdida en la integridad de las membranas a bajas temperaturas de almacenamiento varía de acuerdo con el genotipo de girasol empleado. Sin embargo en nuestros experimentos, no se detectaron diferencias importantes entre genotipos en la sensibilidad a la pérdida de electrolitos en el almacenamiento en cámara a 10 °C (Capítulo V. Figura 5. 11). Tal como se ha establecido en capítulos previos, la peroxidación de lípidos y el daño oxidativo afecta la funcionalidad de las membranas en girasol (Corbineau *et al.*, 2002). Por lo que sería interesante evaluar cómo dichos procesos pueden interactuar con los cambios en la fluidez de las membranas a bajas temperaturas de almacenamiento.

El test de Tetrazolio no mostró diferencias significativas entre los tipos de almacenamiento hasta el mes 9 en ninguno de los experimentos (Figura 6.4 c, d) y solo fue estadísticamente diferente hacia el mes 13 (Figura 6.4 c, d).

Por lo expuesto el test de Conductividad Eléctrica, fue el más eficiente para discriminar el vigor de las semillas en todos los tratamientos aplicados. La Conductividad Eléctrica también fue capaz de reflejar variaciones en las condiciones de crecimiento de las semillas, mostrando efectos significativos del experimento como se observa en la Tabla 4.7 (Capítulo IV) y una asociación significativa con respecto a las variaciones en las condiciones meteorológicas, principalmente las precipitaciones, la radiación y la cantidad de días con temperaturas > 30°C (Tabla 4.8; Capítulo IV). No se han realizado propuestas de su clasificación en categorías, excepto las publicadas por Szemruch *et al.*, (2015), utilizando una alta proporción de datos aportados por esta tesis.

### **6.3.2. Relación entre la Conductividad Eléctrica y la emergencia a campo de semillas desecadas.**

En semillas almacenadas por 6 meses, el test de Conductividad Eléctrica fue capaz de estimar en forma significativa la velocidad de emergencia a campo (medida a través de la cantidad de plántulas/día, plántulas/°Cd y °Cd/plántula) con coeficientes de -0,64, -0,51 y 0,64 respectivamente (Tabla 6.1). Otras variables de la emergencia a campo como el

porcentaje de emergencia y las alturas en V2 y V4, no se asociaron significativamente con los niveles de conductividad.

Tabla 6.1. Coeficientes de correlación de Pearson entre el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica) y la emergencia a campo (porcentaje de emergencia, altura en V2, altura en V4 y velocidad de emergencia en Plántulas/día, Plántulas/°Cd, °Cd/plántula) a los 6 y 19 meses de almacenamiento para los genotipos G1 a G5 en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7 ( $p < 0.05$ ).

Conductividad Eléctrica	6 Meses		19 Meses	
	Coeficiente	Valor P	Coeficiente	Valor P
Porcentaje de Emergencia	-0,37 ns	0,1123	-0,49 ns	0,1477
Altura V2	0,33 ns	0,1566	-0,17 ns	0,6376
Altura V4	-0,17 ns	0,4693	0,23 ns	0,5314
Velocidad de emergencia (Plántulas/día)	-0,64*	0,0023	-0,68*	0,0009
Velocidad de emergencia (Plántulas/°Cd)	-0,51*	0,0225	-0,61*	0,0042
Velocidad de emergencia (°Cd/plántula)	0,64*	0,0024	0,63*	0,0030

\* Valores con p significativos, ns= no significativo

En semillas almacenadas por 19 meses, las relaciones significativas se mantuvieron con coeficientes de -0,68, -0,61 y 0,63 para la cantidad de plántulas/día, plántulas/°Cd y °Cd/plántula (Tabla 6.1). Tampoco se observó asociación significativa con el porcentaje de emergencia ni con las alturas en V2 y V4.

El tiempo de almacenamiento también modificó la emergencia a campo de las semillas (Figura 6.8). Cuando se almacenaron por 6 meses tanto el vigor en laboratorio como la velocidad de emergencia a campo fue mayor que las almacenadas por 19 meses. Esto resulta coherente con la pérdida de calidad de las semillas, a medida que transcurre el tiempo desde la cosecha (Popinigis, 1985; Mc Donald, 1999). La variable de campo que mejor ajusta el efecto del tiempo, es la cantidad de grados día necesarios para formar una plántula (°Cd/plántula) con un  $R^2 = 0,715$  (Figura 6.8 c). Asimismo la variable plántulas/°Cd también mantiene una alta asociación con la conductividad ( $R^2 = -0,624$ ).

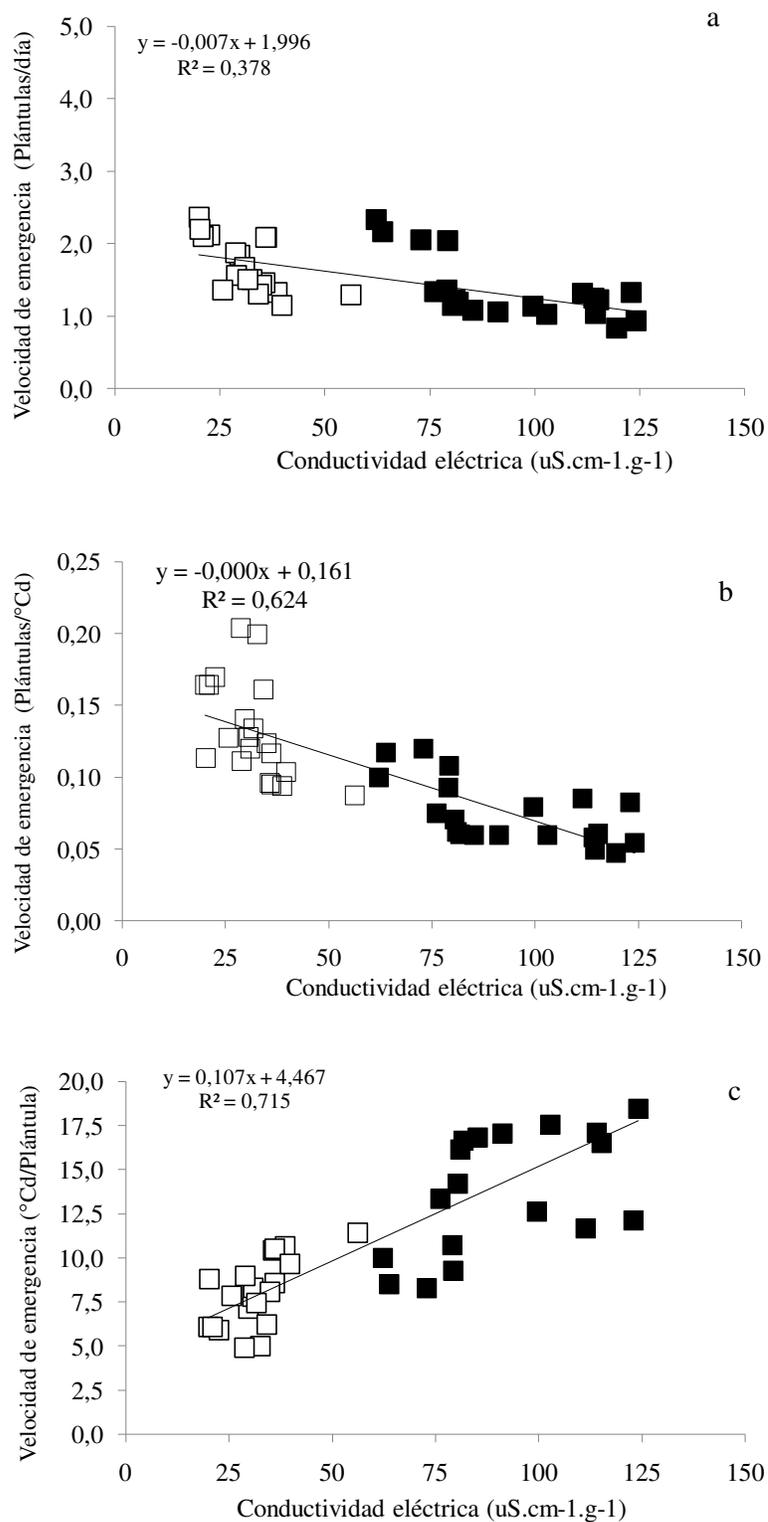


Figura 6.8. Relación entre la velocidad de emergencia a campo en Plántulas/día (a), Plántulas/°Cd (b), °Cd/plántula (c) y el vigor en laboratorio (Conductividad eléctrica) a los 6 (símbolos blancos) y 19 (símbolos negros) meses de almacenamiento, en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7.

Considerando solo las variables con asociaciones significativas, se compararon las diferencias entre las semillas desecadas con PAR y el control. Tanto a los 6 meses como a los 19 meses de almacenamiento, las semillas desecadas tuvieron niveles de vigor a campo superiores que el control (Figura 6.9). Por lo tanto, la mejora en la calidad de las semillas desecadas también se corroboró en condiciones de campo. El anticipo en la cosecha y la menor exposición a las condiciones meteorológicas beneficia la calidad de las semillas desecadas, no solo en los momentos próximos a la cosecha y durante el almacenamiento sino también en la emergencia a campo.

Es importante resaltar que tanto las semillas desecadas como el control a los 6 meses de almacenamiento tuvieron valores de Conductividad Eléctrica inferiores a los  $70 \mu\text{S cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , con lo cual pueden considerarse como de alto vigor, según el umbral antes mencionado. Por su parte las semillas almacenadas por 19 meses tuvieron valores de Conductividad Eléctrica por encima de 70 y  $110 \mu\text{S cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  según el caso, pudiendo ser consideradas como de vigor intermedio o bajo respectivamente (Figuras 6.8 y 6.9).

Si bien el vigor a campo es la expresión final de la calidad de las semillas, aún no existe consenso, en la literatura científica ni en los protocolos privados, sobre cuál es la forma más efectiva para medirlo. Se emplean distintos tipos de metodologías, desde las más básicas, como el porcentaje de emergencia, hasta las más complejas que incluyen una combinación de varios test (Naderidarbaghshahi, 2013). En nuestros experimentos el porcentaje de emergencia no resultó adecuado para estimar el vigor a campo de las semillas de girasol desecadas. Sin embargo, un análisis de los resultados reportados por Liović *et al.* (2008) manifiesta una alta correlación entre el porcentaje de emergencia a campo de las semillas de girasol desecadas y la energía germinativa (cantidad de plántulas emergidas a los 4 días en el ensayo de germinación). Un mismo análisis, para 5 lotes de girasol sin desecar, indican una asociación alta entre la Conductividad Eléctrica (en semillas sin pericarpio) y el porcentaje de emergencia a campo según resultados de Albuquerque *et al.* (2001). El porcentaje de emergencia a campo solo mide la cantidad de plántulas emergidas en relación al total sembradas, pero no la velocidad con la cual éstas emergen, por lo que no sería un buen estimador del vigor a campo.

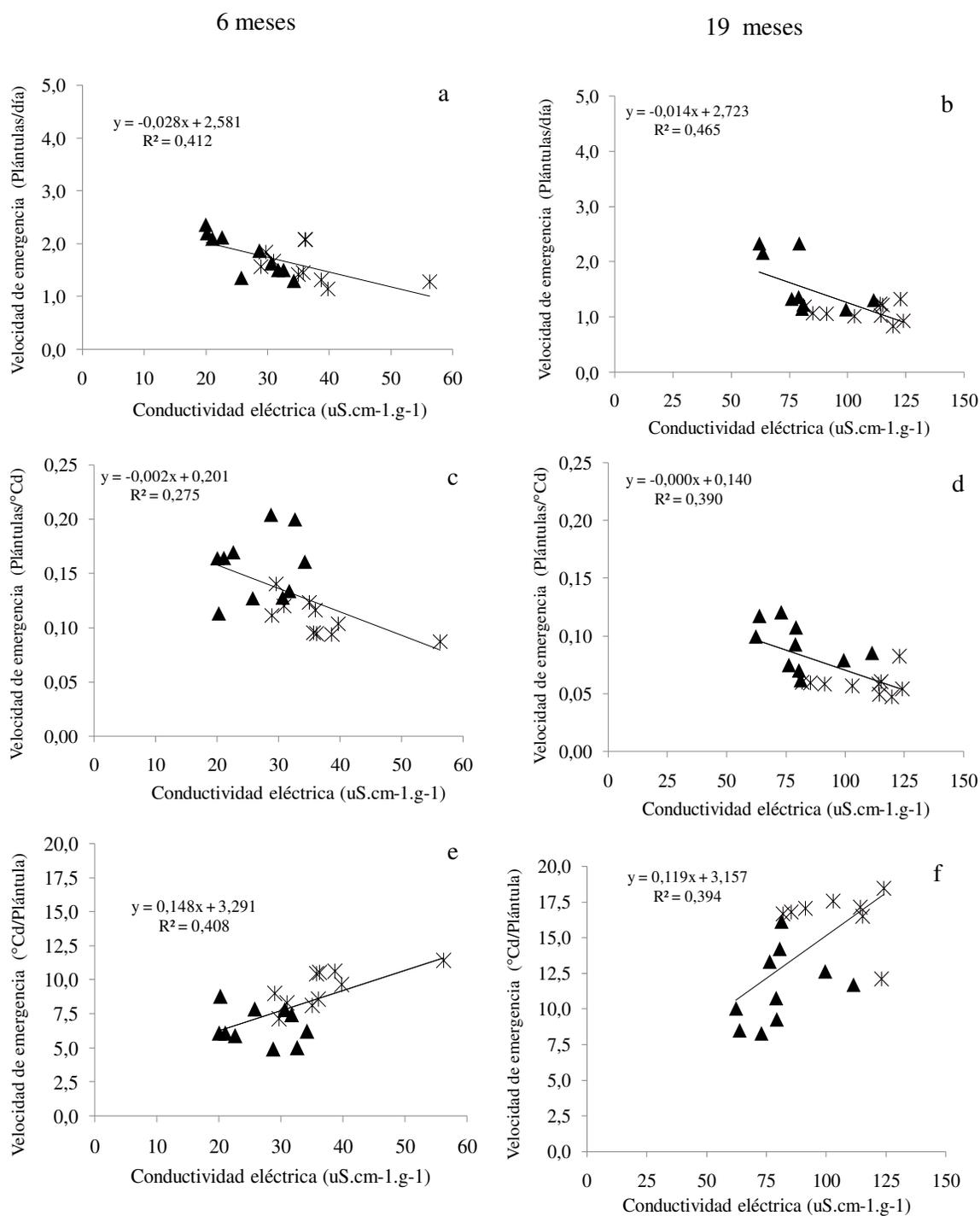


Figura 6.9. Relación entre la velocidad de emergencia a campo en Plántulas/día (a, b), Plántulas/°Cd (c, d), °Cd/plántula (e, f) y el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica) para el tratamiento de desecado con PAR (triángulos) y el Control (cruces) a los 6 (a, c, e) y 19 (b, d, f) meses de almacenamiento en Buenos Aires y Venado Tuerto, experimentos 3, 4 y 7.

Tampoco las metodologías propuestas en el ámbito privado, como la altura en los estadios de V2 y V4 resultaron adecuadas para medir el vigor a campo de las semillas desecadas. En estos estadios tan avanzados es difícil establecer a qué se debe el desempeño de las plantas a campo. Si debe a calidad intrínseca de las semillas (uso de reservas acumuladas en los cotiledones) como puede suceder en V2, o más bien a la capacidad de la propia plántula de obtener recursos a partir de la fotosíntesis contemporánea, mecanismo más probable en V4. De modo que, es posible que mediciones en estadios tan avanzados en el desarrollo, no sean capaces de reflejar en forma adecuada el vigor a campo de las semillas.

Anfinrud y Schneiter (1984), establecieron una alta y significativa correlación entre la Conductividad Eléctrica (medida en semillas de girasol con pericarpio) y la velocidad de emergencia a campo medida en plántulas/día. En cambio, según los valores reportados por Braz *et al.* (2009), la asociación entre la Conductividad Eléctrica (en semillas sin pericarpio) y la cantidad de plántulas/día emergidas a campo fue baja ( $R^2 = 0,17$ ). Nuestros resultados indican más altas correlaciones entre el vigor en laboratorio (Conductividad Eléctrica en semillas sin pericarpio) y la velocidad de emergencia a campo expresado en plántulas/día. La validación de test de Conductividad Eléctrica a campo representa un aporte sustantivo al conocimiento en el área de calidad de semillas. Además, la relación mejora al considerar el vigor a campo en plántulas/°Cd y °Cd/plántula ( $t_{base} = 6^{\circ}\text{C}$

En trabajos previos se ha descrito una variabilidad significativa en las estimaciones de vigor a campo causada por las diferencias en las condiciones del suelo (Anfinrud y Schneiter, 1984; Santorum *et al.*, 2013) y del ambiente meteorológico (Marcos-Filho, 2015). Entre ellas se puede mencionar a las variaciones de temperatura, el contenido de agua, la textura y estructura, la presencia de plagas y enfermedades o la competencia entre plantas (Popinigis, 1985). Asimismo el análisis de datos reportados por Murcia *et al.* (2002) muestra que los cambios en la fecha de siembra, y por lo tanto del ambiente, pueden modificar en gran proporción las relaciones existentes entre los test de vigor de germinación en frío o envejecimiento acelerado y el porcentaje de emergencia a campo de las semillas de girasol. Una manera de independizarse del efecto de la temperatura es la estimación de vigor a campo reemplazando la cantidad de días por el tiempo térmico (°Cd,  $t_{base} = 6^{\circ}\text{C}$ ). Esto minimiza la variabilidad ambiental y podría ayudar en la mejora y

estandarización de test de vigor en girasol. Si esta metodología se extiende, también es sería necesario considerar como se modifica la temperatura base con la composición del aceite de las semillas (Belo *et al.*, 2014)

## **6.4 CONCLUSIONES**

El test de Conductividad Eléctrica es útil para estimar el vigor de las semillas de girasol, debido a su alta sensibilidad para detectar diferencias entre genotipos, formas de cosecha y condiciones de almacenamiento.

El anticipo en la cosecha y la menor exposición a las condiciones meteorológicas beneficia la calidad de las semillas desecadas, incluso bajo las complejas interacciones de las condiciones de campo. Los beneficios del anticipo en la cosecha con PAR, que se traducen en aumentos en la velocidad de emergencia a campo, se estiman más precisamente cuando se evalúa a través de la metodología de grados día/plántula ( $^{\circ}\text{Cd/plántula}$ ,  $t_{\text{base}} = 6^{\circ}\text{C}$ ). Esto minimiza la variabilidad ambiental y podría ayudar en la mejora y estandarización de los test de vigor en girasol.

## **CAPITULO VII**

### **VISION INTERGRAL DE LA LABOR REALIZADA**

## 7.1 Aspectos no resueltos y perspectivas futuras de investigación

Capítulo II: el PAR fue el principio activo con mejor efecto desecante en la mayoría de los órganos bajo todas las condiciones de evaluación. Sin embargo, dada su alta toxicidad, es necesario profundizar las investigaciones con productos menos tóxicos, como el Saflufenacil. En el grano de girasol para industria, el límite máximo de residuos (LMR) es de 0,05 ppm para el PAR dicloruro, mientras que sube a 0,2 ppm para Carfentrazone (SENASA, 2015) y se desconoce en el caso del Saflufenacil. En las condiciones de experimentación (Exp. 1 y 2), solo se detectaron trazas de PAR y Carfentrazone, ubicándose por debajo del límite máximo admitido por la normativa (Szemruch *et al.*, datos no publicados). Sin embargo es necesario continuar con las investigaciones a una mayor escala de producción. En lotes para semilla los riesgos toxicológicos de los desecantes son menores, ya que el producto no se destina a consumo humano. También, la baja altura de las líneas hembra (<1,5 m) posibilita la aplicación terrestre y minimiza los riesgos de deriva. En esta tesis la dinámica de secado de tallos y receptáculos obtenida con Saflufenacil fue similar a la observada con PAR, siendo promisorio continuar estudiando su comportamiento como desecante en lotes de semilla y grano, variando las dosis y combinaciones con otros principios activos.

Se observó que la dinámica de desecación del receptáculo y el tallo fue dependiente de la humedad relativa del ambiente. Bajo condiciones de alta humedad relativa, los efectos del desecado podrían ser escasos si las variables meteorológicas, de los días posteriores a la aplicación, son adversas. Se considera conveniente también evaluar la dinámica de secado de receptáculos y tallos en ambientes con menor humedad (como en el eje Bahía Blanca-VBRC). Es probable que en este tipo de ambientes, la dinámica de pérdida de agua de estos órganos sea diferente. Se plantea la necesidad de avanzar en el modelado de la curva de secado en distintos órganos, incorporando variables que sinteticen el efecto del ambiente, como el déficit de presión de vapor. Bajo esas condiciones resultaría de interés analizar cómo ocurre el flujo de agua a través de las estructuras anatómicas de los receptáculos y tallos (estomas, lenticelas, presencia de capas de cera, etc.) y sus modificaciones ante la aplicación de los desecantes. Por otra parte, las conexiones vasculares de los receptáculos y

tallos con las raíces (Hernández y Larsen, 2013) pueden mantener su estatus hídrico y enmascarar el efecto de los desecantes.

Las dificultades en el secado del receptáculo aún aplicando desecantes obligan continuar avanzando en investigaciones que consideren otros rasgos hereditarios asociados a la velocidad de secado. Estos podrían ser morfológicos, como la forma y posición del receptáculo o el tamaño de brácteas, y/o anatómicos como la cantidad y distribución de pelos y estomas o el espesor y composición de las ceras cuticulares. Incrementar el conocimiento en estas áreas, permitiría identificar características anatómicas y establecer coeficientes genéticos para caracterizar híbridos con mayor facilidad de secado.

En una escala mayor de experimentación (lotes de productores) también sería de utilidad conocer si el desecado afecta la facilidad de trilla y limpieza durante la cosecha mecánica, al modificar diferencialmente la humedad del tallo, receptáculos y semillas.

No se encontró que el patrón de pérdida de verdor fuera diferente en el híbrido con carácter *stay green*. Sin embargo, dada la diversidad genética de los híbridos modernos y la gran evolución que el mejoramiento ha producido en este carácter no se descarta que dicha interacción exista. Por tal razón sería necesario evaluar mayor cantidad de materiales con y sin *stay green* en las condiciones locales de producción. Esta información adquiere relevancia para lotes de producción de granos.

Capítulo IV: Los resultados desprendidos del capítulo IV, solo hacen referencia al efecto del desecado sobre la dormición, en relación a las propiedades físicas de la pared celular de la capa de células endospermáticas. Todavía se discute si la dormición del girasol es debida al espesor de la pared celular de la capa de células endospermáticas específicamente, a su naturaleza lipídica (Rolletschek *et al.*, 2007) o a una interacción entre ambos. Es decir, si la capa de células endospermáticas impide físicamente la emergencia de la radícula, o bien su naturaleza lipídica limita el ingreso de agua o gases, como se ha hipotetizado para *Arabidopsis* (Debeaujon *et al.*, 2000). Morscher *et al.* (2015) demuestran el rol trascendental que tiene el ingreso de oxígeno en la salida de la dormición en girasol. Por lo que es posible que, alguno de los constituyentes químicos de la pared celular de las células del endosperma de girasol, impidan el ingreso de oxígeno necesario para eliminar la dormición. Desde el punto de vista hormonal, también se ha demostrado en *Arabidopsis*

que la capa de células endospermáticas controla en forma activa la dormición. Estas células sintetizan ácido abscísico (ABA) luego de la imbibición, reprimiendo la germinación de los embriones (Lee *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2015). Este mecanismo podría ocurrir en forma similar en el endosperma de girasol. Rosello *et al.* (2016) determinaron que el metabolismo del ABA en cipselas enteras (con pericarpio y cubierta seminal) de girasol está involucrado en la imposición de la dormición. Para dilucidar esta cuestión se requiere profundizar las investigaciones tendientes a distinguir el rol de cada uno de los constituyentes de la semilla (pericarpio, cubierta seminal propiamente dicha y endosperma) en el metabolismo del ABA y la imposición de la dormición (Andrade *et al.*, 2015; Vigliocco *et al.*, 2017). Sería interesante conocer cómo se vinculan químicamente los tejidos vivos y muertos de la cubierta seminal, entre sí y con respecto a los tejidos del pericarpio. Otra de las posibles futuras líneas de investigación está relacionada a los cambios en la estructura anatómica de la cubierta seminal durante la maduración en la línea parental femenina (entrada en la dormición) o durante las etapas de pos-cosecha y almacenamiento (salida de la dormición).

Si bien en esta tesis no se ha analizado el ingreso y traslocación del principio activo dentro de los tejidos de las semillas, la ausencia de diferencias en la calidad fisiológica de las semillas híbridas cosechadas en plantas desecadas con PAR y mediante CM, sugiere la inexistencia de efectos tóxicos directos del herbicida. Esto se corroboró tanto en semillas intactas (método de ISTA) como aquellas que habían sido desprovistas de sus envolturas (SpSc). Resultaría interesante conocer si la ausencia de efectos fitotóxicos ocurrió porque: i) el principio activo no ingresó a las semillas al ser retenido por alguno de los componentes de las cubiertas del fruto o ii) ingresó pero fue desactivado por compuestos químicos presentes en la semilla propiamente dicha. En caso de ingresar y ejercer algún perjuicio, este no sería tan elevado como para contrarrestar la mejora producida en la calidad dada por el anticipo en la cosecha. Las semillas de arveja contienen compuestos antioxidantes que detoxifican radicales libres y especies activas del oxígeno (Szafrńska *et al.*, 2016). Es posible que los compuestos antioxidantes del pericarpio de girasol (compuestos fenólicos) puedan ejercer algún tipo de defensa frente a la acción del PAR. Esto debería analizarse en futuras investigaciones. También sería necesario comprobar la seguridad de otros desecantes químicos menos tóxicos, como Saflufenacil y Carfentrazone, sobre la calidad fisiológica de las semillas, tanto a cosecha como en el almacenamiento prolongado.

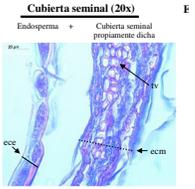
La importancia de las condiciones meteorológicas en la calidad de las semillas quedó demostrada considerando que la cosecha anticipada con PAR redujo el tiempo de permanencia de las semillas en el campo, lo que redundó en una mejora de la germinación y el vigor. Para obtener mayores generalizaciones sería muy interesante establecer la importancia relativa de cada una de las variables climáticas en la calidad de las semillas de girasol. Esto podría realizarse en ensayos multi-sitio con un mayor gradiente latitudinal que el abordado en esta tesis, y/o en condiciones controladas (cámaras de crecimiento) que permitan manipular cada variable por separado. De este modo será posible de separar sus posibles interacciones e identificar cuáles de ellas ejerce mayor control en la calidad fisiológica de las semillas de esta especie.

Capítulo V: No se observó asociación entre la tasa de deterioro y el contenido de aceite o ácido oleico de las semillas de girasol. Como se mencionó anteriormente sería necesario analizar estas relaciones en semillas de girasol con muchos años de deterioro (Walters *et al.*, 2005), semillas sometidas a condiciones extremas de temperatura (mayores a 200°C) o humedad (100% de humedad) (Ravber *et al.* (2015). Luego del crecimiento de las semillas de girasol, durante la maduración o secado, Lehner *et al.* (2006) no hallaron cambios en el contenido o la composición de aceite, pero si modificaciones importantes en las propiedades físicas de los lípidos de reserva. Estos autores demuestran que los cambios en la movilidad de las moléculas lipídicas (transición del estado “*glass*” a “*rubber*”) y su reorganización, pueden jugar un rol trascendental en la adquisición de la capacidad germinativa y la calidad potencial las semillas de girasol. Estas mismas consideraciones podrían trasladarse a la etapa de almacenamiento prolongado y permiten suponer que el deterioro de las semillas de girasol probablemente esté más asociado a cambios en las propiedades físicas de los lípidos de reservas, antes que a modificaciones en la concentración o composición de aceite. Otra de las potenciales líneas de investigación es el estudio de la oxidación de proteínas (Morscher *et al.*, 2015). Un nivel más detallado para dilucidar estas cuestiones implica experimentación exhaustiva y análisis moleculares/fisiológicos. Los objetivos propuestos en el presente trabajo se basan fundamentalmente en el efecto del desecado en la calidad de las semillas, por lo que dichas aseveraciones pueden ser consideradas en futuras líneas de investigación.

Capítulo VI: Dada la alta efectividad del test de Conductividad Eléctrica en la detección de diferencias de vigor originadas por las condiciones de crecimiento, maduración, cosecha y almacenamiento, surge la necesidad de extender las investigaciones con el objetivo recomendar su uso en la industria semillera. Para una ampliar la caracterización de la pérdida de vigor mediante el test de Conductividad Eléctrica se propone corroborar el modelo de rangos de vigor propuesto por Szemruch *et al.* (2015) (ver Figura 6.1) y ajustarlo empleando mayor cantidad de genotipos y lotes dentro de un mismo genotipo. Además se plantea la necesidad de realizar una validación, recurriendo a la contrastación entre diferentes laboratorios, con el fin de avanzar en su estandarización metodológica. Esto requerirá la activa participación de varios organismos públicos (INTA, INASE), privados (semilleros) y organizaciones internacionales (ISTA). Si se valida la correlación con el vigor a campo, los umbrales de vigor medidos por la prueba de Conductividad Eléctrica a partir de semillas descascaradas resultará una herramienta útil y estandarizada según normas globales para la toma de desiciones en la industria de las semillas y por parte de los productores.

## 7.2 Resumen y modelización

Resumen del efecto de desecado con PAR en las principales variables analizadas:

Capítulo	Nuevo conocimiento	Perspectivas futuras de investigación
<p>Dinámica de secado de la planta</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El PAR fue más efectivo en todos los órganos y genotipos.</li> <li>- Las semillas se secan más rápidamente que los receptáculos y tallos. Estos últimos permanecen con altos contenidos de agua, aún cuando las semillas llegan al 10 % de humedad. El secado de los receptáculos y tallos depende de la humedad relativa del aire.</li> <li>- Pérdida de verdor poco asociada al secado efectivo de cada órgano</li> <li>- Genera condiciones aptas para cosecha mecánica solo en la producción de semillas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ensayar desecantes menos tóxicos variando dosis y principios activos.</li> <li>- Evaluar otros ambientes (combinaciones de humedad y temperatura y otras variables meteorológicas (déficit de presión de vapor) a mayor escala (nivel de lote).</li> <li>- Investigar el efecto de rasgos morfológicos y anatómicos en el flujo de agua (forma y posición del receptáculo, tamaño de brácteas, cantidad y distribución de pelos, estomas, espesor y composición de las ceras cuticulares).</li> </ul>
<p>Rendimiento de líneas parentales femeninas y composición acídica de semillas híbridas</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La desecación con PAR alrededor del 30% de humedad de semillas no reduce el rendimiento de las líneas parentales femeninas, ni el contenido o la composición acídica de las semillas híbridas.</li> <li>- El desecado con PAR brinda ventajas en la producción de semillas, anticipa la cosecha sin efectos perjudiciales.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ensayar desecantes menos tóxicos variando dosis y principios activos.</li> <li>- Emplear mayor cantidad de genotipos</li> </ul>
<p>Calidad fisiológica inicial de las semillas híbridas</p>  	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumenta la dormición mediante cambios en la morfología de las células endospermáticas de la cubierta seminal.</li> <li>- Beneficia la calidad fisiológica inicial de las semillas de girasol, a través de una menor exposición a las fluctuaciones del ambiente meteorológico.</li> <li>- Dicho beneficio es independiente de la constitución genética de las líneas parentales femeninas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analizar cambios en la anatomía de la pared celular cuando se aplican tratamientos de hidratación y deshidratación.</li> <li>- Rol del pericarpio, cubierta seminal propiamente dicha y endosperma, en el metabolismo del ABA y la imposición de la dormición.</li> <li>- Cómo se vinculan químicamente los tejidos vivos y muertos de la cubierta seminal, entre sí y con respecto a los tejidos del pericarpio</li> <li>- Cambios en la anatomía de la cubierta seminal durante la maduración, pos-cosecha y almacenamiento.</li> <li>- Traslocación y metabolismo del principio activo dentro de los tejidos de las semillas.</li> <li>- Probar otros desecantes.</li> <li>- Importancia relativa las variables climáticas en la calidad de las semillas de girasol.</li> </ul>
<p>Calidad fisiológica de las semillas híbridas durante el almacenamiento</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produce un menor deterioro, debido a la mayor calidad inicial con la que parten las semillas desecadas. El beneficio se mantiene en cámara solo si las semillas presentan alto vigor inicial.</li> <li>- La calidad fisiológica durante el almacenamiento no se atribuye a cambios la composición acídica y se descarta un deterioro más lento en las semillas con altos contenidos de ácido oleico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analizar asociación entre la tasa de deterioro y el contenido de aceite o ácido oleico en semillas de girasol con muchos años de deterioro y condiciones extremas de humedad y/o temperatura.</li> <li>- Estudio de la oxidación de proteínas.</li> <li>- Modificaciones en las propiedades físicas de los lípidos de reserva durante el almacenamiento prolongado.</li> </ul>
<p>Test de vigor y la emergencia a campo</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Buena utilidad del test de CE, debido a su alta sensibilidad para detectar diferencias genotípicas, de cosecha y de almacenamiento.</li> <li>- La mejora en la calidad también se corroboró bajo las complejas condiciones de campo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Corroborar el modelo de rangos de vigor y ajustarlo empleando mayor cantidad de genotipos y lotes dentro de un mismo genotipo.</li> <li>- Validación, recurriendo a la contrastación entre diferentes laboratorios, con el fin de avanzar en su estandarización metodológica.</li> </ul>

En la figura 7.1 se ejemplifica el modelo conceptual elaborado en el capítulo introductorio con las modificaciones surgidas a partir de conocimiento generado en esta tesis.

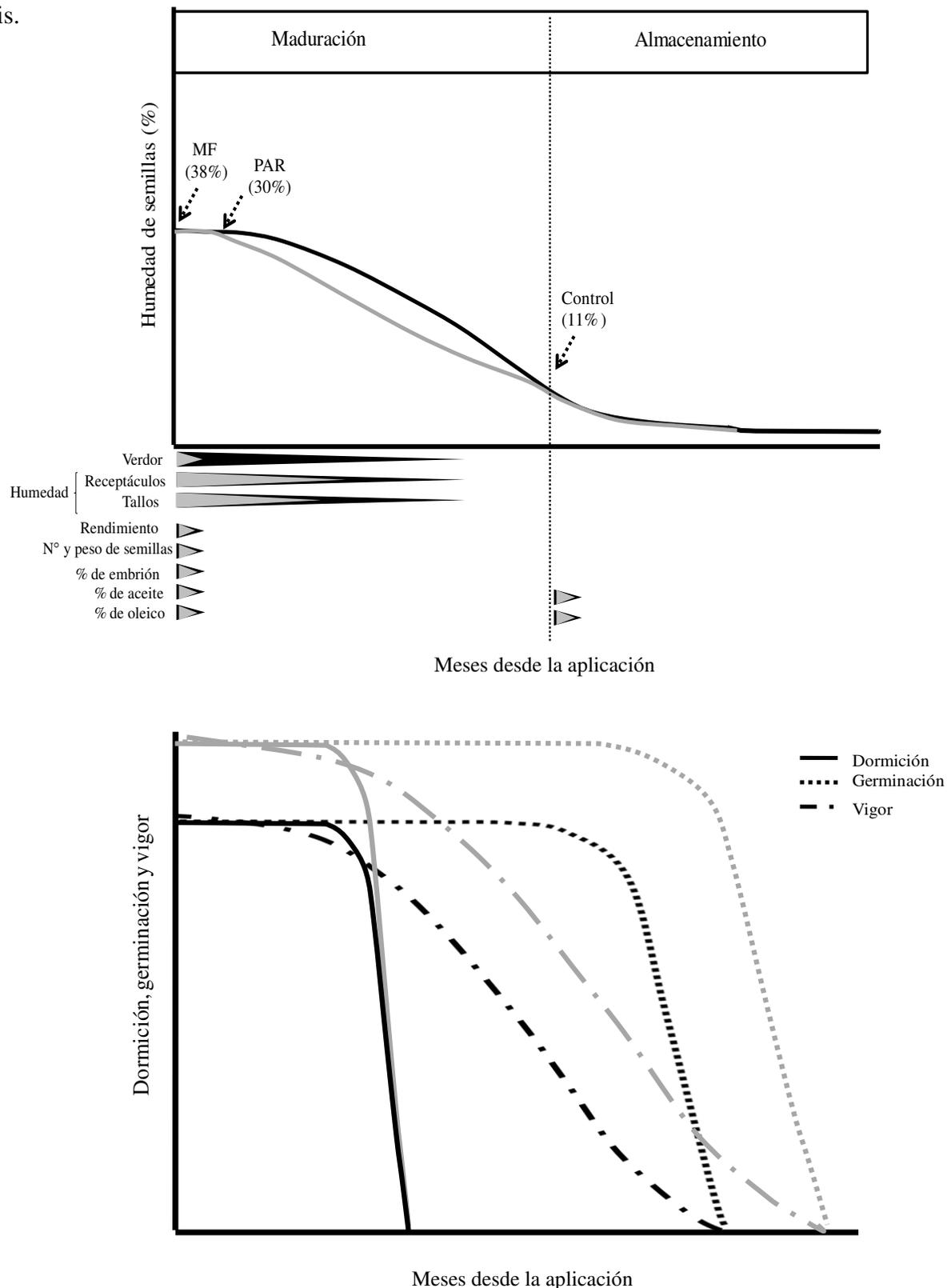


Figura 7.1. Diagrama conceptual integrador de la respuesta de las semillas de girasol al desecado con PAR (líneas y triángulos grises) y el control (líneas y triángulos negros). Abreviaturas: Madurez Fisiológica (MF), PAR. La longitud de los triángulos indica el efecto del desecante (menor longitud, menor efecto).

### **7.3 Conclusión general la tesis**

Los beneficios de la tecnología de desecado químico, documentados por el presente trabajo, permiten recomendarla para contribuir en la optimización de los procesos de producción y almacenamiento de semillas de girasol. El anticipo en la cosecha, mediante desecado químico, no solo contribuye a disminuir la exposición adversidades bióticas y abióticas, sino que también ejerce beneficios en la calidad fisiológica de las semillas, lo cual se manifiesta a cosecha, durante el almacenamiento y en la posterior emergencia a campo.

## REFERENCIAS

- Abreu, L. A. D. S., Carvalho, M. L., Pinto, C. A. G., Kataoka, V. Y. y Silva, T. T. D. A. 2013. Deterioration of sunflower seeds during storage. *Journal of Seed Science*, 35: 240-247.
- Aguirrezábal, L. A. N., Lavaud, Y., Dosio, G. A. A., Izquierdo, N. G., Andrade, F. H. y González, L. M. 2003. Intercepted solar radiation during seed filling determines sunflower weight per seed and oil concentration. *Crop Science*, 43: 152–161.
- Aguirrezabal, L. A. N., Martre P, Pereyra-Irujo, G., Echarte, M. M. e Izquierdo, N. 2015. Improving grain quality: ecophysiological and modeling tools to develop management and breeding strategies. En: Sadras, V. O. y Calderini, D. *Crop Physiology: Applications for genetic improvement and agronomy*. Ed. Elsevier. Pp.:423–465.
- Albrecht, L. P., Barbosa, A. P., Silva, A. F. M., Mendes, M. A., Maraschi-Silva, L. M. y Albrecht, A. J. P. 2011. Desempenho da soja roundup ready sob aplicação de glyphosate em diferentes estádios. *Planta Daninha*, 29: 585-590.
- Albrecht, L. P., Barbosa, A. P., Silva, A. F. M., Mendes, M. A., Maraschi-Silva, L. M., Albrecht, A. J. P. y Avila, M. R. 2012. RR soybean seed quality after application of glyphosate in different stages of crop development. *Revista Brasileira de Sementes*, 34:373 – 381.
- Albrecht, L. P., Krenchinski, F. H., Placido, H. F., Bomm, M. A. R., Kunz, V. L., Canan Korber, Â. H. C. y Bieler, R. R. 2013. Canola desiccation at different stages of pods maturation. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 12,143-150.
- Albuquerque, M. C. F., Moro, F. V., Fagioli, M. y Ribeiro, M. C. 2001. Fagioli and potassium leaching tests in the evaluation of physiological quality of sunflower seeds. *Revista Brasileira de Sementes*, 23: 1-8.
- Al-Maskri, A. Y., Khan, M. M, Iqbal, M. J. y Abbas, M. 2004. Germinability, vigour and electrical conductivity changes in acceleratedly aged watermelon (*Citrullus lanatus* T.) seeds. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2:100-103.
- Analizador SAD 9000 INTA-Consultar. 2017. Disponible en [http://www.laboratorioconsultar.com/equipos/SAD-9000-S/PDF/SAD-9000-S\\_es.pdf](http://www.laboratorioconsultar.com/equipos/SAD-9000-S/PDF/SAD-9000-S_es.pdf)
- Andrade, A. Riera, N., Lindstrom, L., Alemanno, S., Alvarez, D., Abdala, G. y Vigliocco, A. 2015. Pericarp anatomy and hormone profiles of cypselas in dormant and non-dormant inbred sunflower lines. *Plant Biology*, 17: 351–360.
- Anfinrud, M. N. y Schneiter, A. A. 1984. Relationship of sunflower germination and vigour test to field performance. *Crop Science*, 24: 341-344.
- ASAGIR, 2008. Asociación Argentina de Girasol. Evaluación de daño por la paloma torcaza (*Zenaida auriculata*) en girasol y pérdida de cosecha en la provincia de La

Pampa campaña 2011-2012.

Disponibile:[http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos\\_arcp/20121023115126.pdf](http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos_arcp/20121023115126.pdf)  
AS

- Atkinson, R. G., Brummell, D. A., Burdon, J. N., Patterson, K. J., Schaffer, R. J. 2016. Plants in action. Disponible en: <http://plantsinaction.science.uq.edu.au/book/export/html/70>
- Aznar-Moreno, J. A., Martínez-Force, E., Venegas-Calación, M., Garcés, R. y Salas, J. J. 2013. Changes in acyl-coenzyme A pools in sunflower seeds with modified fatty acid composition. *Phytochemistry*, 87: 39–50
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. y Come, D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97: 104:110.
- Bajpai, R., Singh, P. y Singh, D. P. 2016. Study on seed vigour and their correlation to field emergence in groundnut (*Arachis hypogea* L.) genotypes. *Indian Journal of Research Papirex*, 4: 455-457.
- Balešević-Tubić, S., Malenčić, Đ., Tatić, M. y Miladinović, J. 2005. Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. *Helia*, 28, 107-114.
- Balešević-Tubić, S., Tatić, M., Miladinović, J. y Pucarević, M. 2007. Changes of fatty acids content and vigour of sunflower seed during natural aging. *Helia*, 30, 61-68.
- Balešević-Tubić, S., Tatić, M., Đorđević, V., Nikolić, Z. y Đukić, V. 2010. Seed viability of oil crops depending on storage conditions. *Helia*, 33: 153-160.
- Baley, C., Morvan, C. y Grohens, Y., 2005. Influence of the absorbed water on the tensile strength of flax fibers. *Macromol. Symposia*, 222:195–202.
- Barry, C. S. 2009. The stay-green revolution: Recent progress in deciphering the mechanisms of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Science*, 176: 325-333.
- Baskin y Baskin, 2014 *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. 2° Ed Academic/Elsevier. San Diego, CA, USA. 1600 pp.
- Bazin, J., Langlade, N., Vincourt, P., Arribat, S., Balzergue, S., El-Maarouf-Bouteau, H. y Bailly, C. 2011. Targeted mRNA oxidation regulates sunflower seed dormancy alleviation during dry after-ripening. *The Plant Cell*, 23: 2196-2208.
- Bellé, C., Kulczynski, S. M., Basso, C. J., Edu Kaspary, T., Lamego, F. P. y Pinto, M. A. B. 2014. Yield and quality of wheat seeds as a function of desiccation stages and herbicides. *Journal of Seed Science*, 36:063-07.
- Belo, R. G, Tognetti, J., Benech-Arnold, R. e Izquierdo, N. G. 2014. Germination responses to temperatura and wáter potential as affected by seed oil composition in sunflower. *Industrial crops and products*, 62: 537-544.

- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. Chapter 3: Development- Regulation and maturation. En: Seeds: Physiology of Development and Germination, 2ed, New York, Ed. Plenum Press. Pp.: 117-143.
- Bianco, J., Garello, G. y Le Page-Degivry, L. 1994. Release of dormancy in sunflower embryos by dry storage: involvement of gibberellins and abscisic acid. *Seed Science Research*, 4: 57 – 62.
- Bragachini, M., Peiretti, J., Giordano, J., Sánchez, F. y Ustarroz, F. 2012. Eficiencia de cosecha de girasol con agregado de valor en origen. Actualización Técnica N° 71. INTA PRECOP- MINAGRYP. Disponible en [http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_cosecha\\_de\\_girasol.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cosecha_de_girasol.pdf). 24 pp.
- Braz, M. R. S., Barros, C. S., Castro, F. P. y Rossetto, C. A. V. 2008. Testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. *Ciência Rural*, 38: 1857-1863.
- Braz, M. R. S. y Rossetto, C. A. V. 2009. Correlation between sunflower seeds quality evaluation tests and seedling emergence in field. *Ciência Rural*, 39: 2004-2009.
- Brzezinski, C. R., Abati, J., Zucareli, C., Henning, F. A., Henning, A. A., Colombo, R. C. y Krzyzanowski, F. C. 2015. Teste de condutividade elétrica para a determinação do vigor em sementes de soja tratadas e armazenadas. VII Congresso Brasileiro de Soja. Mercosoja. Florianópolis. Brasil.
- Brunick, R. L. 2007. Seed dormancy in domesticated and wild sunflowers (*Helianthus annuus* L.): types, longevity and QTL discovery. Tesis Doctoral. Oregon State University Department of Horticulture.
- Bülow, L.B. y Araújo da Cruz-Silva, C.T. 2012. Desiccant application prior to harvest on physiological seed quality in soybean. *Journal of Agronomical Sciences*, 1: 67-75.
- Calzada, J. y Terré, E. 2017. ¿ Cúales pueden ser los destinos finales y usos del girasol 16/17? Boletín Informativo semanal de las Bolsa de Comercio de Rosario. Mayo 2017. Disponible en: [https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal\\_noticias.aspx?pIDNoticia=629](https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal_noticias.aspx?pIDNoticia=629)
- Canavelli, S. B. 2010. Consideraciones de manejo para disminuir los daños por aves en girasol. INTA – Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Disponible: <http://inta.gob.ar/documentos/consideraciones-de-manejo-para-disminuir-los-danos-por-aves-en-girasol>
- Cantamutto, M., Poverene, M., Presotto, A., Alvarez, D., Lenardón, S., Rodriguez, R., Martin-Sanchez, J. Fernandez-Moroni, I., Giolitti, F., Garayalde, A., Haucke, A., Bellido, A. y Fraysse, M. 2010. The argentine wild *Helianthus annuus* L. genetic resource. *Helia*, 33: 47 – 62.
- Carvalho, L. F., Sedyama, C. S., Reis, M. S., Dias, D. C. F. S. y Moreira, M. A. 2009. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade

- elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes*, 31:009-017.
- Casini, C. 2004. Una buena cosecha comienza con una Buena semilla. *Boletín de Divulgación*. INTA. EEA. Manfredi. 32-33. Disponible en: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/cosecha/unaBuenaCosecha.asp>
- Cessna, A. J., Darwent A. L., Townley Smith, L., Harker, K. N. y Kirkland, K. J. 2002. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in field pea, barley and flax seed following preharvest applications. *Canadian Journal of Plant Science*. 82: 485-489.
- Chaneva, G. y Petrova, D. 2014. Effect of method of applying the herbicide PAR on pea and maize. 2014. *Oxidation Communications*, 37: 1090–1102.
- Código Alimentario. 2005. Comisión del Codex Alimentarius. 28° reporte de sesión. FAO, Cede Roma. Pp.: 4–9
- Connor, D. J. y Hall, A. J. 1997. *Sunflower Phisiology. Sunflower technology and production*. Ed. American Society of Agronomy, Crop Society of America, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA. 834 pp.
- Corbineau, F., C. Gay-Mathieu, D. Vinel y Come, D. 2002. Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. *Physiologia Plantarum*, 116: 489-496.
- Crapiste, G. H., Brededan, M. I. V. y Carelli, A. A. 1999. Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76: 1437-1443.
- Craviotto, R. M., Pearnau, M. R. A., Gallo, C. y Montero, M. S. 2016. La calidad contada por la propia semilla. Disponible en <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/calidad/La-Calidad-Contada-Por-La-Propia-Semilla.pdf>
- Crnošćak, J. 1987. Influence of environmental conditions of moisture and temperature in ontogenesis on physiological and biological properties of sunflower seeds. Tesis de Magíster. Facultad de Agricultura, Novi Sad, Serbia.
- Cumming, G., Fidler, F., Vaux, D. 2007. Error bars in experimental biology *The Journal of Cell Biology*, 177: 7-11
- Daltro, E. M. F., Albuquerque, M. C. F., França Neto, J. B, Guimarães, S. C., Gazziero, D. L. P. y Henning, A. A. 2010. Desiccants application prior to harvest: effect on physiological seed quality in soybean. *Revista Brasileira de Sementes*, 32: 111-122.
- Debeaujon, I., Léon-Kloosterziel, K. M. y Koornneef, M. 2000. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 122: 403–413.

- de la Vega, A. J. y Chapman, S. C. 2001. Genotype by environment interaction and indirect selection for yield in sunflower II. Three-mode principal component analysis of oil and biomass yield across environments in Argentina. *Field Crops Research*, 72: 39-50.
- de la Vega, A. J., Cantore, M. A., Sposaro, M. M., Trápani, N., López Pereira, M. y Hall, A. J. 2011. Canopy stay-green and yield in non-stressed sunflower. *Field Crops Research*, 121: 175–185.
- Delgado, C. M. L., Coelho, C. M. M. D. y Buba, G. P. 2015. Mobilization of reserves and vigor of soybean seeds under desiccation with glufosinate ammonium. *Journal of Seed Science*, 37: 154-161.
- Del Longo, O., A. H. Perez y M. Murcia. 1999. Effect of the presence of pericarp on the conductivity values in sunflower (*Helianthus annuus* L.) with different levels of deterioration. *Informativo Abrates*, 9: 149-149.
- De Oliveira, F. N., Torres, S. B., Vieira, F. E. R., de Paiva, E. P., y Dutra, A. S. 2012. Qualidade fisiológica de sementes de girassol avaliadas por condutividade elétrica. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 42: 10-1590
- De Oliveira Lins, S. R., de Carvalho, M. L. M., das Graças Cardoso, M., Miranda, D. H. y de Andrade, J. 2014. Physiological, enzymatic, and microstructural analyses of sunflower seeds during storage. *Australian Journal of Crop Science*, 8: 1038-1048.
- Delouche, J. C., y Caldwell, W. P. 1960. Seed vigor and vigor tests. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*. Association of Official Seed Analysts. Pp.:124-129.
- Demir, I., Cebeci, C. y Guloksuz, T. 2012. Electrical conductivity measurement to predict germination of commercially available radish seed lots. *Seed Science and Technology*, 40:229-237.
- Denis, L., Coelho, V., Vear, F. 1994. Pericarp structure and hullability in sunflower inbred lines and hybrids. *Agronomie, EDP Sciences*, 7:453-461.
- Di Rienzo, J.A., Robledo, C.W., Balzarini, M.G., Casanoves, F., Gonzalez, L. y Tablada, M. 2008. InfoStat. Versión 2008. Grupo InfoStat. FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina. URL [Http://www.infostat.com.ar](http://www.infostat.com.ar)
- Domingos, M., da Silva, A. A. y da Silva, J. F. 2000. Qualidade da semente de feijão armazenada após dessecação química das plantas, em quatro estádios de aplicação. *Acta Scientiarum*, 22: 1143-1148.
- Dornbos, D. Jr. 1995. Production environment and seed quality. En: Basra, A. *Seed Quality. Basic mechanisms and agricultural implications*. Ed. Binghamton. New York. USA. 389 pp.
- Duke, S. O., Rimando, A. M., Pace, P. F., Reddy, K. N. y Smeda, R. J. 2003. Isoflavone, Glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of Glyphosate-treated,

- Glyphosate-resistant soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 340-344.
- Durnev, G. I. y Yatchuk, P. V. 2013. The impact of desiccants and growth regulators on the sowing quality of soya seeds. *Vestnik OrelGAU*, 3: 24-28.
- Egli, D. B., TeKrony, D. M., Heitholt, J. J. y Rupe, J. 2005. Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. *Crop Science*, 45:1329-1335
- Egli, D. B. 2017. *Seed Biology and Yield of Grain Crops*. 2nd Edition. Capítulos 2 y 3. Ed. CABI. Londres Inglaterra. 215 Pp.
- Endres, G. y Hendrickson, P. 2009. Performance of sharpen as a preharvest desiccant in sunflower, Carrington, 2009. North Dakota State University. Disponible en <https://www.ag.ndsu.edu/archive/carringt/agronomy/Research/ProdMgmt/2009%20Sunflower%20response%20to%20Sharpen.pdf>
- Erbaş, S., Tonguç, M., Karakurt, Y. y Şanlı, A. 2016. Mobilization of seed reserves during germination and early seedling growth of two sunflower cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89: 217 – 222.
- Esfahani, M., Fardi, M., Asghari, J., Rabiei M. y Samizadeh, H. 2012. Effects of pre-harvest application of parquat on grain moisture reduction, grain yield and quality of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 10: 75- 82
- Farrell, M. 2010. Uso de defoliantes en girasol como herramienta para escapar a las plagas y disminuir las pérdidas de cosecha. <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/cosecha/Uso-Defoliantes-Girasol.pdf>
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Hussain, M., Rehman, H. y Saleem, B. A. 2009. Incorporation of polyamines in the priming media enhances the germination and early seedling growth in hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 6:868-872.
- Fehr, W. R., Caviness, C. F., Burmood, D. T. y Pennington, J. S. 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science*, 11: 929-931.
- Fernández, V., Bahamonde, H. A., Peguero-Pina, J. J., Gil-Pelegrín, E., Sancho-Knapik, D., Gil, L., Goldbach, H. E., Eichert, T. 2017. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*, 2-14.
- Fessel, S.A., M. Panobianco, C. Souza y Vieira, R. D. 2010. Electrical conductivity test of soybean seeds stored under different temperatures. *Bragantia*, 69: 207-214.

- Fick, G. y Miller, J. F. 1997. Sunflower Breeding. En: Schneiter. A. A. 1997. Sunflower Technology and Production. N° 35. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. USA. 834 pp.
- França-Neto, J.B. y Krzyzanowski, F.C. 2009. The tetrazolium test for seed vigor determination. En: Baalbaki, R. Elias, S., Marcos-Filho, J., Mc Donald, M.B. Seed vigor testing handbook. Ed, AOSA, Ithaca, NY, USA. Contribution to the Handbook on Seed Testing, 32. Pp.:100-104.
- Franchini<sup>1</sup>, M.C., Lindström, L. I., Hernández, L. F. 2008. Epicuticular wax content in the pericarp of sunflower fruits (*Helianthus annuus* L.) grown under moderate water deficit. Proc. 17th International Sunflower Conference, Córdoba, España. 249-253.
- Gallo, C., J. M. Enrico, R. Cravioto y M. Arango, 2012. Variability of vigour and viability of soybean seed lots containing green seeds, in cultivars at different maturation groups, at two date of sowing. Revista Investigación Agropecuaria, 32: 133-140.
- Ghasemnezhad, A. y Honermeier, B. 2007. Influence of storage conditions on quality and viability of high and low oleic sunflower seeds. International Journal of Plant Production, 3: 39-48.
- Gesch, R.W. y Johnson, B. L. 2012. Seed moisture at physiological maturity in oilseed and confectionary sunflower hybrids in the northern U.S. Field Crops Research, 133:1-9.
- Georgii, E., Jin, M., Zhao, J., Kanawati, B., Schmitt-Kopplin, P., Albert, A., Barbro Winkler, J., Schäffner, A. R. 2017. Relationships between drought, heat and air humidity responses revealed by transcriptome-metabolome co-analysis. BMC, Plant Biology, 17:120.
- Goel, A. y Sheoran, I. S. 2002. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. Biología Plantarum, 46: 429-434.
- Greven, M. M., McKenzie, B. A., Hampton, J. G., Hill, M. J., Sedcole, J. R. y Hill, G. D. 2004. Factors affecting seed quality in dwarf French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) before harvest maturity. Seed Science and Technology, 32: 797-811.
- Griffin, J. L., Boudreaux, J.M. y Miller, D. K. 2010. Herbicides as harvest aids. Weed Science, 58: 355-358.
- Grossmann, K., Niggeweg, R., Christiansen, N., Looser, R. y Ehrhardt, T. 2010. The herbicide Saflufenacil (Kixor™) is a new inhibitor of protoporphyrinogen IX oxidase activity. Weed science, 58:1-9.
- Gubbels, G. H. y Dedio, W. 1985. Desiccation of sunflower with Diquat. Canadian Journal of Plant Science. 65:841-847.
- Guimarães, V. F., Hollmann, M. J., Fioreze, S. L., Echer, M. M., Rodrigues-Costa, A. C. P. y Andreotti, M. 2012. Produtividade e qualidade de sementes de soja em função de estádios de dessecação e herbicidas. Planta Daninha, 30: 567-573.

- Hasan, M. A., Ahmed, J. U., Hossain, T., Mian, M. A. K. y Haque, M. M. 2013. Evaluation of the physiological quality of wheat seed as influenced by high parent plant growth temperature. *Journal. Crop Science Biotechnology*, 16: 69-74.
- Hashemi, R. A., Jaddi, Y., Sadeghi, M. A., Ghiamati, S., Motazedi, M. 2017. Study of Toxicology Effects of Herbicide PAR on Hematological Parameters of *Mesopotamichthys sharpeyi*. *Open Journal of Marine Science*, 7: 258-270.
- Hernández, L. F. y Paoloni, P. J. 1998. Germinación y emergencia de cuatro híbridos de girasol (*Helianthus annuus* L.) con diferente contenido lipídico y en relación con la temperatura. *Investigación Agraria*, 13: 345-358.
- Hernandez, L. F. y Larsen, A. O. 2013. Spanish Journal of Agricultural Research, 11: 447-454. Visual definition of physiological maturity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) is associated with receptacle quantitative color parameters.
- Hossain, M. M, Khan, M. A. A., Hosain, M. T., Bari, A. F y Hasanuzzaman, M. 2013. Germination and electrical conductivity of two species of jute seed as affected by different sowing and production methods. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6: 861-865.
- Howatt, K., Jenks, B., Moechnig, M. y Stahlman, P. 2009. Replacements for PAR as harvest aid in sunflower. Disponible en [https://sunflowerusa.com/uploads/resources/197/howatt\\_PAR\\_09.pdf](https://sunflowerusa.com/uploads/resources/197/howatt_PAR_09.pdf).
- Howatt, K. 2011. Some points to remember about sunflower desiccation. AG Annex Disponible en <http://www.agannex.com/diseases/some-points-to-remember-about-sunflower-desiccation>.
- Inoue, M. H., Marchiori Júnior, O, Braccini, A. D. L., Oliveira Júnior, R. S. D., Ávila, M. R. y Constantin, J. 2003. Rendimento de grãos e qualidade de sementes de soja após a aplicação de herbicidas desecantes. *Ciência Rural*, 33: 769-770.
- Inoue, M. H., Pereira, P. S. X., Mendes, K. F., Ben, R., Dallacort, R., Mainardi, J. T., Araújo, D. V. D. y Concian, P. A. 2012. Determinação do estágio de dessecação em soja de hábito de crescimento indeterminado no Mato Grosso. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 11: 71-83.
- INTA, 2009. Eficiencia de cosecha en el cultivo de girasol en la campaña 2008-2009. Actualización Técnica N° 23. Pag 1-7. Disponible en: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folleto/FolletoCosechaGirasol.pdf>
- IRI, 2016. International Research Institute for Climate and Society.. ENSO Forecast. A monthly summary of the status of El Niño, La Niña, and the Southern Oscillation, or ENSO, based on the NIÑO 3.4 index (120-170W, 5S-5N). September 2014, October, 2015. Disponible en: <http://iri.columbia.edu/our-expertise/climate/forecasts/enso/2014-September-quick-look>.
- ISTA, 2006. International Seed Testing Association. Handbook on Seedling Evaluation. Third Edition. Ed. Don, R. Basserdorf, Suiza.

- ISTA, 2010. International Seed Testing Association International rules for seed testing. Ed. 2011. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- ISTA, 2013. International Seed Testing Association. International rules for seed testing. Ed. 2013. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- ISTA, 2015. International Seed Testing Association International rules for seed testing. Ed. 2015. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechniques. Ed. McGraw-Hill. New York. USA.
- John, M. J. y Anandjiwala, R. D. 2008. Recent developments in chemical modification and characterization of natural fiber-reinforced composites. *Polymer Composites*, 29: 187–207.
- Johnson, B. L., Larson, T. D. y Henson, R. A. 2004. Desiccation of stay-green and conventional sunflower. Proc. 16th International Sunflower Conference, Fargo, ND USA.
- Kang, J., Yim, S., Choi, H., Kim, A., Lee, K. P., Lopez-Molina, L., Martinoia, E. y Lee, Y. 2015. Abscisic acid transporters cooperate to control seed germination. *Nature communications*, 6: 1-10.
- Kannababu, N. y Karivaratharaju, T.V. 2000. Maternal influence of cytoplasmic genic male sterile lines on seed quality in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Indian Journal of Plant Physiology*, 5: 159-162.
- Kappes, C., Carvalho, M. A. C., y Yamashita, O. M. 2009. Physiological potential of soybean seed desiccated with diquat and PAR. *Scientia Agraria*, 10: 1-6.
- Kappes, C., Arf, O., Arf, M. V., Ferreira, J. P., Alcalde, A. M. y Portugal, J. R. 2012. Produtividade de feijoeiro de inverno submetido à dessecação com PAR na pré-colheita. *Ceres*, 59, 56-64.
- Kausar, M., Mahmood, T., Basra, S. M. A. y Arshad, M. 2009. Invigoration of low vigor sunflower hybrids by seed priming. *International Journal of Agriculture Biology*, 11, 521–528.
- Kaya, M. D. 2014. Conformity of vigor tests to determine the seed quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 8:455-459.
- Kleingartner, L. W. 2010. New weapon in toolbox for sunflower desiccation. *The Sunflower Magazine*. August/September 2010. National Sunflower Association. Disponible en <https://sunflowernsa.com/magazine/articles/default.aspx?ArticleID=3324>
- Krizmanić, G., Šimić, B., Tucak, M., Popović, S., Čupić, T., Španić, V., Mijić, A., Liović, I. 2014. Importance of storage conditions and seed treatment for sunflower hybrids seeds germination. *Poljoprivreda*, 20: 3-7.

- Lacerda, A. L. S., Lazarini, E., Sá, M. E. y Walter Filho, V. V. 2001. Aplicação de dessecantes na cultura de soja: antecipação da colheita e produção de sementes. *Planta Daninha*, 19: 381-390.
- Lacerda, A. L. S., Lazarini, E., Sá, M. E. y Walter Filho, V. V. 2003. Aplicação de dessecantes na cultura de soja: teor de umidade nas sementes e biomassa nas plantas. *Planta Daninha*, 21: 427-434.
- Lacerda, A. L. S., Lazarini, E., Sá, M. E., Walter Filho. 2005. Efeitos da dessecação de plantas de soja no potencial fisiológico e sanitário das sementes. *Bragantia*, 64:447-457.
- Lamego, F. P., Gallon, M., Basso, C. J., Kulczynski, S. M., Ruchel, Q., Kaspary, T. E. y Santi, A. L. 2013. Dessecação pré-colheita e efeitos sobre a produtividade e qualidade fisiológica de sementes de soja. *Planta Daninha*, 31: 929-938.
- Larson, T. D., Johnson, B. L., y Henson, R. A. 2008. Comparison of stay-green and conventional sunflower desiccation in the Northern Great Plains. *Agronomy Journal*, 100: 1124-1129.
- Lee, K. P., Piskurewicz, U., Turečková, V., Strnad, M. y Lopez-Molina, L. 2010. A seed coat bedding assay shows that RGL2-dependent release of abscisic acid by the endosperm controls embryo growth in *Arabidopsis* dormant seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107:19108-19113.
- Lehner, A., Corbineau, F. y Bailly, C. 2006. Changes in lipid status and glass properties in cotyledons of developing sunflower seeds. *Plant Cell Physiol*, 47: 818-28.
- Le Page-Degivry, M.T., Barthe. P. y Garello, G. 1990. Involvement of endogenous abscisic acid in onset and release of *Helianthus annuus* embryo dormancy. *Plant Physiology*, 92: 1164 – 1168
- Le Page-Degivry, M.T. y Garello, G. 1992. In situ abscisic acid synthesis: a requirement for induction of embryo dormancy in *Helianthus annuus*. *Plant Physiology*, 98: 1386-1390.
- Liebl, R., H. Walter, S. J. Bowe, T. J. Holt, y Westberg, D. E. 2008. BAS 800H: a new herbicide for preplant burndown and PRE dicot weed control. *Weed Science Society of America Conference*, Abstract 120. Lawrence, KS: Weed Science Society of America.
- Lima, D de C., Dutra, A. S., Pontes, F. M. y Coelho Bezerra, F. T. 2014. Storage of sunflower seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 45: 361-369.
- Lindström, L. I., Pellegrini, C. N. y Hernández, L. F. 2007. Histological development of the sunflower fruit pericarp as affected by pre- and early post-anthesis canopy shading. *Field Crops Research*, 103: 229–238

- Lindström, L. I. y Hernández, L. F. 2015. Developmental morphology and anatomy of the reproductive structures in sunflower (*Helianthus annuus*): a unified temporal scale. *Botany*, 93: 1–10
- Liović, I., Bilandžić, M., Krizmanić, M., Mijić, A., Popović, R., Ivanišić, I., Duvnjak, T., Šimić, B. y Ćosić, J. 2008. Influence of desiccation on germination and field emergence of sunflower. Proceedings: 17th International Sunflower Conference, Ed. Junta de Andalucía - Consejería de Agricultura y Pesca. Córdoba, España. Pp.: 341-344.
- Liović, L., Martinović, J., Bilandžić, M., Krizmanić, M., Mijić, A. y Šimić, B. 2010. Desiccation in ordinary and stubble sowing of sunflower. *Agriculture*, 16: 13-19.
- Little, T. M. 1985. Analysis of percentage and rating scale date. *Hort Science*, 20:642-644.
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science*, 2: 176-177.
- Maiti, R. K., Vidyasagar P., Shahapur, S. C. y Seiler, G. J. 2006. Studies on genotypic variability and seed dormancy in sunflower genotypes (*Helianthus annuus* L.). *Indian Journal Crop Science*, 1: 84-87.
- Mantese, A. I., Medan, D. y Hall, A. J. 2006. Achene structure, development and lipid accumulation in sunflower cultivars differing in oil content at maturity. *Annals of Botany*, 97: 999–1010.
- Marcandalli, L. H., Lazarini, E. y Malaspina, I. C. 2011. Épocas de aplicação de dessecantes na cultura da soja: qualidade fisiológica de sementes. *Revista Brasileira de Sementes*, 33:241-250.
- Marchiori Jr., O., Inoue, M.H., Braccini, A.L., Oliveira Jr., R.S., Avila, M.R., Lawder, M. y Constantin, J. 2002. Seed quality and productivity of canola (*Brassica napus* L.) after desiccant application prior to harvest. *Planta Daninha*, 20: 253-261.
- Marcos-Filho, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ. 495 pp.
- Marcos-Filho, J. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72: 363-374.
- Mavi, K., Demir, I. y Matthews, S. 2010. Mean germination time estimates the relative emergence of seed lots of three cucurbit crops under stress conditions. *Seed Science and Technology*, 38: 14-25.
- Mbofung, G. C. Y. A., Goggi, S., Leandro, L. F. S. y Mullen, R. E. 2013. Effects of storage temperature and relative humidity on viability and vigor of treated soybean seeds. *Crop Science*, 53: 1086-1095.
- Mc Donald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237.

- Mc Naughton K. E., Blackshaw, R. E., Waddell, K. A., Gulden, R. H., Sikkema P. H. Y Gillard, C L. 2015. Effect of five desiccants applied alone and in combination with glyphosate in dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Canadian Journal of Plant Science, 95: 1235-1242.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Science, 2: 176-177.
- Marques, E. R., Araujo, E. F., Araujo, R. F., Martins Filho, S. y Soares, P. C. 2014. Seed quality of rice cultivars stored in different environments. Journal of Seed Science, 36: 32-39.
- Martínez-Rivas, J. M., Sperling, P., Lühs, W. y Heinz, E. 2001. Spatial and temporal regulation of three different microsomal oleate desaturase genes (FAD2) from normal-type and high-oleic varieties of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Molecular Breeding, 8: 159–168.
- Martiniagno J. y Casuso M. 2015. Ensayo Preliminar de evaluación de las pérdidas de rendimiento ocasionadas por aves en girasol en el sudoeste chaqueño. Informe INTA. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/ensayo-preliminar-de-evaluacion-de-las-perdidas-de-rendimiento-ocasionadas-por-aves-en-girasol-en-el-sudoeste-chaqueno>
- Matthews, S. y Powell, A. 2006. Electrical conductivity vigour test: physiological basis and use. Seed Testing International, 131:32-35.
- Matthews, S., Demir, I., Celikkol, T., Kenanoglu, B.B. y Mavi, K. 2009. Vigour tests for cabbage seeds using electrical conductivity and controlled deterioration to estimate relative emergence in transplant modules. Seed Science and Technology, 37:736-746.
- Mielezrski, F. y Marcos-Filho, J. 2013. Assessment of physiological potential of stored pea (*Pisum sativum* L.) seeds. Journal of Seed Science, 35: 42-50.
- Miklić, V., Crnobarac, J., Joksimović, J., Dušanić, N., Vasić, D. y Jocić, S. 2006. Effect of harvest date on seed viability of different sunflower genotypes. Helia, 29: 127-134.
- Miller, T.W. 2002. Diquat used as a preharvest desiccant affects seed germination of spinach, table beet, and coriander. HortScience, 37: 1032-1034.
- Mohammadi, H., Soltani, A., Sadeghipour, H. R. y Zeinali, E. 2001. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. International Journal of Plant Production, 5, 65-70.
- Mora, M., Guerrero, M. y Martín, I. 2012. Relación entre germinación y test de conductividad eléctrica en semillas de judía. IV Jornadas de la AEL V Seminario de Judía. Potevedra. España. Pp.: 267-270.
- Morscher, F., Kranner, I, Arc, E., Bailly, C. y Roach, T. 2015. Glutathione redox state, tocopherols, fatty acids, antioxidant enzymes and protein carbonylation in sunflower seed embryos associated with after-ripening and ageing. Annals of Botany, 116, 669–678.

- Mourad, A. L., Neto, A. R., de Oliveira Miguel, A. M. R., Henriques, E. A. y Alves, R. M. V. 2016. Storage stability of three genotypes of sunflower seeds. *Industrial crops and Products*, 80: 6-16.
- Moyer, J. R., Acharya, S. N., Fraser, J., Richards, K. W. y Foroud, N. 1996. Desiccant of alfafa for seed production with diquat and glufosinate. *Canadian journal of plant science*, 76:435-439.
- Mrđa, J., Crnobarac, J. y Miklič, V. 2010. Effect of chemical treatment, length of storage and the substrate on germination energy of sunflower hybrid ns-h-111. *Research Journal of Agricultural Science*, 42: 201-206.
- Murcia, M., Peretti, A., San Martino, S., Pérez, A., Del Longo, O., Argüello, J. y Pereyra, v. 2002. Vigor e emergência em campo de sementes de girassol com alto teor de ácido oleico, no sudeste da provincia de buenos aires. *Revista Brasileira de Sementes*, 24:129-133.
- Murcia, M., Wingeyer, A.B., Ramos, A., Monterubbiansi, G. y Cardinali, F. 2003. Secuencia de deterioro de embriones de girasol (*Helianthus annuus* L.) durante el envejecimiento acelerado. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/agric/oleag/girasol/murcia.htm>
- Murcia, M., Del Longo, O., Argüello, J., Pérez, M. A. y Peretti, A. 2006. Evaluación del crecimiento de plántulas de cultivares de girasol con diferentes proporciones de ácidos oleico/linoleico en respuesta a la baja temperatura. *Revista Brasileira de Sementes*, 28: 95-101.
- Naderidarbaghshahi, M. 2013. Do correlation coefficient and regression models able to describe relationship between laboratory seed vigour tests and field seed emergence of crops. *Journal of Novel Applied Sciences*, 2: 678-682.
- Nakashima, E. K., Rocha, V. S., Sedyama, C. S., Y Ferreira, F. A. 2000. Dessecação química na obtenção de sementes de soja de elevada qualidade fisiológica. *Ceres*, 47: 483-493.
- Ocvirk D., Špoljarević, M., Marković, S. S., Lisjak, M., Hanzer, R. y Teklić, T. 2014. Seed germinability after imbibition in electrical conductivity test and relations among maize seed vigour parameters. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12:140-145.
- OECD, 2016. Organization for Economic Cooperation and Development. Varietal certification of crucifer seed and other oil or fibre species. Disponible en <http://www.oecd.org/tad/code/annex-codes-schemes-crucifers-and-other-oil-or-fibre-species.pdf>
- Ongom, P. O., Volenec, J. J., y Ejeta, G. 2016. Selection for drought tolerance in sorghum using desiccants to simulate post-anthesis drought stress. *Field Crops Research*. En prensa. Diponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2016.03.015>

- Panobianco, M., Vieira, R. D. y Perecin, D. 2007. Electrical conductivity as an indicator of pea seed aging of stored at different temperatures. *Scientia Agricola*, 64: 119-124.
- Parreira, M. C, Lemos, L. B, Portugal, J. y Alves, P. L. D. C. A. 2015. Effects of desiccation with glyphosate on two common bean cultivars: physiology and cooking quality of the harvested product. *Australian Journal of Crop Science*, 9:925-930.
- Pedraza, M. V., Pereyra, V. y Escande, A. 2001. Alternativa para disminuir la producción de esclerocios en girasol afectado por podredumbre húmeda del capítulo. Disponible en:  
<http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/agric/oleag/girasol/pedraza.htm>
- Pereira Da Silva, H. 2011. Dessecação de plantas de girassol e qualidade de sementes armazenadas. Tesis de Magíster. Universidad Federal de Lavras. Brasil.
- Pereira, T., Medeiros Coelho, C. M., Souza, C.A.; Mantovani, A. y Mathias V. 2015. Dessecação química para antecipação de colheita em cultivares de soja. *Ciências Agrárias*, 36: 2383-2394.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. 281 pp.
- Pinto, M. A. B., Basso, C. B., Kulczynski, S. M. y Bellé, C. 2014. Productivity and physiological quality of seeds with burn down herbicides at the pre harvest of bean crops. *Journal of Seed Science*, 36: 384-391.
- Popinigis, F. 1985. Fisiologia da semente. 2° Ed. Brasilia-DF. 247 pp.
- Presotto, A., Poverene, M. y Cantamutto, M. 2014. Seed dormancy and hybridization effect of the invasive species, *Helianthus annuus*. *Annals of Applied Biology*, 164: 373 – 383.
- Premnath, A., Narayana, M., Ramakrishnan, C., Kuppusamy, S. y Chockalingam, V. 2016. Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Molecular Breeding*, 36:2-7
- Queiroga, V. P. y Duran, J. M. 2010. Physiological quality analysis in sunflower seeds with and without pericarp. *Proceedings of the 1st International Symposium of Energy Oilseeds*. 23-26 de septiembre, Campina Grande. Brasil. Pp.: 1944-1950.
- Rade., P. H y Cobb, A. H. 2002. Herbicides: Mode of action and Metabolism. Capítulo 8. En: *Weed Management Handbook*. Ed. R. E. L. Naylor. Trelareg consultans. Blackwell Science. Finzean, Banchory, Scotland.USA.
- Radić, V., Vujaković, M., Marjanović-Jeromela, A., Mrđa, J., Miklič, V., Dušanić, N. y Balalić, I. 2009. Interdependence of sunflower seed quality parameters. *Helia*, 32: 157-164.
- Ramos, K. M. O., Matos, J. M. M., Martins, R. C. C. y Martins, I. S. 2012. Electrical Conductivity testing as applied to the assessment of freshly Collected *Kielmeyera coriacea* Mart. seeds. *International Scholarly Research Network Agronomy*. 5 pp.

- Rana, M.A., Ozair, C.A., Khan, M .A y Shafiullah. 1989. Effect of maturity stages and desiccant application on yield and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Proceedings of the Joint Second Workshop Held. 9-12 de septiembre. El Cairo. Egipto.
- Ravber, M., Knez, Ž. y Škerget, M. 2015. Hydrothermal degradation of fats, carbohydrates and proteins in sunflower seeds after treatment with subcritical water. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29, 351-355.
- Renzi, J. P., Reinoso, O., Vasicek, J. P., Ávalos, M., Oquiñena, A. y Cantamutto, M. A. 2015. Impacto de la chinche diminuta (*Nysus* sp.) sobre el cultivo de girasol del valle bonaerense del Río Colorado DURANTE 2014/15. Disponible en: [http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_ascasubi-informe\\_tcnico\\_n\\_43-chinche\\_diminuta\\_vb.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ascasubi-informe_tcnico_n_43-chinche_diminuta_vb.pdf)
- Ribeiro, D. M., Bragança, S. M., Goneli, A. L. D., Dias, D. C. F. S. y Alvarenga, E. 2009. Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes em milho-pipoca (*Zea mays* L.). *Ceres*, 56:772-776.
- Rodriguez-Penagos, M., y Black, M. 1994. Changes in the cell wall accompanying drying and maturation determine the ease of isolation of protoplasts from wheat aleurone layers. *Plant Cell Reports*, 13: 353-356.
- Rodriguez-Rosales, M. P., Kerkeb, L., Ferrol, N., y Douaire, J. P. 1998). Lipoxygenase activity and lipid composition of cotyledons and oil bodies of two sunflower hybrids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36: 285-291.
- Rolletschek, H, Borisjuk, L, Sánchez-García, A, Gotor, C., Romero, L.C., Martínez-Rivas, J.M. y Mancha, M. 2007. Temperature-dependent endogenous oxygen concentration regulates microsomal oleatedesaturase in developing sunflower seeds. *Journal of Experimental Botany*, 58: 3171–3181.
- Rondanini D. P., Savin, R. y Hall A. J. 2007. Estimation of physiological maturity in sunflower as a function of fruit water concentration. *European Journal of Agronomy*, 26: 295-309.
- Rondanini, D. P., Mantese, A. I., Savin, R. y Hall, A. J. 2009. Water content dynamics of achene, pericarp and embryo in sunflower: Associations with achene potential size and dry-down. *European Journal of Agronomy*, 30:53–62.
- Rosello, P. L., Vigliocco, A. E., Andrade, A. M., Riera, N. V., Calafat, M., Molas, M. L. y Alemano, S. G. 2016. Differential hormonal and gene expression dynamics in two inbred sunflower lines with contrasting dormancy level. *Plant Physiology and Biochemistry*, 102: 133- 140.
- Salas, J. J., Martínez-Force, E., Harwood, J. L., Venegas-Calerón, M., Aznar-Moreno, J. A., Moreno-Pérez, A. J., Ruiz.Lópe, N., Serrano- Vega, M. J., Graham, I. A., Mullen, R. T. y Garcés, R. 2014. Biochemistry of high stearic sunflower, a new source of saturated fats. *Progress in lipid research*, 55: 30-42.

- Samarah, N. y Alqudah, A. 2011. Effects of late-terminal drought stress on seed germination and vigor of barley (*Hordeum vulgare* L.). Archives of Agronomy and Soil Science, 57: 27-32.
- Santorum, M., L. H. P. Nobrega, E. G. De Souza, D. Dos Santos, W. Boller y M.M. Mauli, 2013. Comparison of tests for the analysis of vigor and viability in soybean seeds and their relationship to field emergence. Acta Scientiarum Agronomi., 35: 83-92.
- Santos, J. B., Ferreira, E. A., Santos, E. A., Silva, A. A., Silva, F.M. y Ferreira, L. R. 2004. Qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) após aplicação do carfentrazone-ethyl em pré-colheita. Planta Daninha, 22: 633-639.
- Santos, J. B., Ferreira, E. A., Ferreira, E. M., Silva, A. A. y Ferreira, L. R. 2005. Efeitos da dessecação de plantas de feijão sobre a qualidade de sementes armazenadas. Planta Daninha, 23:645-651.
- Schneiter, A. A. y Miller J. F. 1981. Description of sunflower growth stages. Crop Science, 21:901-903.
- Schreiber, L., Riederer, M. 1996. Ecophysiology of cuticular transpiration - comparative investigation of cuticular water permeability of plant species from different habitats. Oecologia. 107:426-432.
- Seiler, G. J. 1997. Anatomy and morphology of sunflower. Sunflower technology and production. Ed. American Society of Agronomy, Crop Society of America, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA. 834 pp.
- SENASA, 2015. Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria. Productos fitosanitarios y fertilizantes. Registro nacional de terapéutica vegetal. LMR de principios activos por cultivo. Disponible en <http://www.senasa.gov.ar/informacion/prod-vet-fito-y-fertilizantes/prod-fitosanitarios-y-fertili/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal>.
- Shafiullah, M.A., Baitullah, K., Rana, M. A., Khan, B. R. y Ozair C. A. 2001. Effect of desiccant application and time of harvest on yield and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Helia, 24:105-114.
- Sharman P, Sardana, V. y Kandhola, S. S. 2013. Effect of sowing date and harvesting dates on germination and seedling vigor of groundnut (*Arachis hypogaea*) cultivars. Research Journal of Seed Science, 6:1-15.
- Shinohara T., Hampton, J. G. y Hill M. J. 2006. Effects of the field environment before and after seed physiological maturity on hollow heart occurrence in garden pea (*Pisum sativum*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 34:247-255.
- Silva, R., C. R. S. Grzybowski, J.B., Franca-Neto y Panobianco, M. 2013. Adaptation of the tetrazolium test for assessment of sunflower seed viability and vigor. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 48: 105-113.

- Šimić, B., Popović, R., Sudarić, A., Rozman, V., Kalinović, I. y Ćosić, J. 2007. Influence of storage condition on seed oil content of maize, soybean and sunflower. *Agriculturae Conspectus Scientifi*, 72: 211-213.
- Sivritepe H. O., Senturk, B. y Teoman, S. 2015. Electrical Conductivity Tests in Maize Seeds. *Advances in Plants Agriculture Research*, 3: 00075.
- Stahlman, P., Howatt, K., Jenks, B., y Moechnig, M. 2010. Saflufenacil – A new preharvest desiccant of sunflower. Australian Summer Grains Conference. Disponible en: <http://www.grdc.com.au/Resources/2010ASGC>).
- Su, T., Wolf, S., Han, M., Zhao, H., Wei, H., Greiner, S., Rausch, T. 2016. Reassessment of an Arabidopsis cell wall invertase inhibitor AtCIF1 reveals its role in seed germination and early seedling growth. *Plant Molecular Biology*. 90: 137-155
- Subedi, M. , Willenborg, C.J., Vandenberg, A. 2017. Influence of harvest aid herbicides on seed germination, seedling vigor and milling quality traits of red lentil (*Lens culinaris* L.). *Frontiers in Plant Science*. 7:311.
- Szafrańska, K., Reiter, R. J. , Posmyk, M. M. 2016. Melatonin application to *Pisum sativum* l. seeds positively influences the function of the photosynthetic apparatus in growing seedlings during paraquat-induced oxidative stress. *Frontiers in Plant Science*, 7:663.
- Szemruch, C., Rentería S., Moreira F., Cantamutto, M., Ferrari, L. y Rondanini, D. 2014. Germination, vigour and dormancy of sunflower seeds following chemical desiccation of female plants. *Seed Science and Technology*, 42:454-460.
- Szemruch, C., Del Longo, O., Ferrari, L., Renteria, S., Murcia. M., Cantamutto, M. y Rondanini, D. 2015. Ranges of vigor based on the electrical conductivity test in dehulled sunflower seeds. *Research Journal of Seed Science*, 8: 12-21.
- Tajbakhsh, M. 2000. Relationships between electrical conductivity of imbibed seeds leachate and subsequent seedling growth (viability and vigour) in Omid wheat. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2: 67-71.
- Tatić, M., Balešević-Tubić, S., Đorđević, V., Miklič, V., Vujaković, M. y Đukić, V. 2012. Vigor of sunflower and soybean aging seed. *Helia*, 35: 119-126.
- Tavares, C. T., Araújo, A.C. F., Jakelaitis, A., Resende, O., Sales, J. D. F. y Freitas, M. A. M. 2015. Qualidade de sementes de feijão-azuki dessecadas com saflufenacil e submetidas ao armazenamento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 19, 1197–1202.
- Toledo, M. Z., Cavariani, C. y França-Neto, J. B. 2012. Qualidade fisiológica de sementes de soja colhidas em duas épocas após dessecação com glyphosate. *Revista Brasileira de Sementes*, 34:134 – 142.

- Toledo, M. Z., Ishizuka, M. S., Cavariani, C., França-Neto, J. B. y Picoli, L. B. 2014. Pre-harvest desiccation with glyphosate and quality of stored soybean seeds. *Ciências Agrárias*, 35: 765-774.
- Toole, G. A., Le Gall, G., Colquhoun, I. J., Nemeth, C., Saulnier, L., Lovegrove, A., Pellny, T., Wilkinson, M. D., Freeman, J., Mitchell, R. A., Mills, E. N. y Shewry, P. R. 2010. Temporal and spatial changes in cell wall composition in developing grains of wheat cv. Hereward. *Planta*, 232, 677-689.
- Veselova, T. V., Veselovsky V. A. y Obroucheva, N.V. 2015. Deterioration mechanisms in air-dry pea seeds during early aging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 87: 133-139.
- Vigliocco, A., Andrade, A. M., Lindstrom, L. I., y Alemano, S. G. 2017. Dormancy in sunflower line A-3: the role of the pericarp. *Botany*, 95: 853-858.
- Vidović, M., Morina, F., Prokić, L., Milić-Komić, S., Živanović, B., Veljović Jovanovića S. 2016. Antioxidative response in variegated *Pelargonium zonale* leaves and generation of extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in (peri) vascular tissue induced by sunlight and paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 206: 25-39
- Vieira, R.D. Teste de condutividade elétrica. 1994. En: Vieira, R. D.; Carvalho, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal. Ed. FUNEP. Brasil. Pp.:103-132.
- Vijay, K., Lokesh, G. Y., Basave, G., Patil, S. B., Ganiger, B. S. y Rakesh ,C. M. 2015. Accelerated ageing test to study the relative storage potential of hybrid sunflower-RSFH-130 (*Helianthus annuus*). *African Journal of Agricultural Research*, 10:3502-3506.
- Viloria, H. y Méndez, J. 2011. Relationship among electrical conductivity, pH of soaked-water, seed germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under two experimental conditions. *Scientia Agropecuaria*, 2: 213 - 228
- Vranceanu, A. V. 1977. El girasol. Ed. Mundi Prensa, Madrid. 379 pp.
- Walters, C., Landre', P., Hill, L., Corbineau, F. y Bailly, C. 2005. Organization of lipid reserves in cotyledons of primed and aged sunflower seeds. *Planta*, 222, 397-407.
- Weiss, A. N., Primer, S. B., Pace, B.A. y Mercer, K. L. 2013. Maternal effects and embryo genetics: germination and dormancy of crop – wild sunflower hybrids. *Seed Science Research*, 23: 241-255.
- Wilcox, D., Done, A., Mc David, P. and Greer, P. 2002. Image Tool v. 3.0, University of Texas, Health Science Center, San Antonio, TX.
- Wilson, D.O. y Mc Donald, M.B. 1986. The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Science and Technology*, 14: 269-300.
- Woodenberg, W. R., Pammenter, N. W., Farrant, J. M., Driouich, A y Berjak, P. 2014. Embryo cell wall properties in relation to development and desiccation in the

- recalcitrant seeded *Encephalartos natalensis* (*Zamiaceae*) Dyer and Verdoorn. *Protoplasma*, 252:245-258.
- Yousaf, Z., Saleh, N., Ramazan, A., Aftab., A. 2016. Postharvesting Techniques and Maintenance of Seed Quality. Capitulo 5. *New Challenges in Seed Biology- Basic and Translational Research Driving Seed Technology*. Ed. Susana Araujo. Disponible en <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/52197.pdf>
- Zhang, T., Johnson, E. N., and Willenborg, C. J. 2016. Evaluation of harvest aid herbicides as desiccants in lentil production. *Weed Technology*, 30: 629–638.
- Zhu, J., Zhu, H., Abhyankar, H., Njuguna, J. 2013. Effect of fibre treatments on water absorption and tensile properties of flax/tannin composites. 19th International Conference On Composite Materials. Montreal, Canada. Disponible en: <http://confsys.ence.concordia.ca/ICCM19/AllPapers/FinalVersion/NJU80408.pdf>
- Zuil, S. y Farrel, M. 2014. Girasol y aves. Características del capítulo para disminuir sus daños. Disponible: [http://inta.gob.ar/documentos/girasol-y-aves/at\\_multi\\_download/file/INTA\\_VyE\\_Nro32\\_4\\_Girasol\\_y\\_aves.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/girasol-y-aves/at_multi_download/file/INTA_VyE_Nro32_4_Girasol_y_aves.pdf)

## **ANEXO**

Tabla 1. Germinación luego de la aplicación de tratamientos para romper dormición: Pre-enfriado, Pre-humedecimiento y Ethrel para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control, de los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5, 6 y 7.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Germinación (%) luego de la aplicación de tratamientos para romper dormición		
			Pre-enfriado	Pre-humedecimiento	Ethrel
5	G1	PAR	31 b*	90 a	80 a
		CM	15 c	98 a	82 b
		Control	77 ab	77 ab	42 c
	G2	PAR	20 c	82 b	--
		CM	33 c	78 b	--
		Control	75 b	90 a	--
	G3	PAR	29 b	82 a	88 a
		CM	12 bc	78 a	82 a
		Control	66 a	70 a	72 a
6	G1	PAR	1 c	79 b	80 b
		CM	9 c	86 ab	82 b
		Control	81 a	79 a	70 a
	G2	PAR	7 d	85 b	--
		CM	6 c	86 a	--
		Control	81 ab	79 ab	--
	G3	PAR	0 d	36 b	78 a
		CM	1 c	32 b	75 a
		Control	71 a	72 a	71 a
7	G1	PAR	14 b	77 a	--
		Control	87 a	86 a	--
	G2	PAR	13 b	86 a	--
		Control	86 b	87 b	--
	G3'	PAR	6 b	58 a	--
		Control	85 a	74 a	--
	G4	PAR	7 b	68 a	--
		Control	82 a	63 a	--
	G5	PAR	8 b	93 a	--
Control		89 a	79 c	--	

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos para romper dormición dentro de cada fila. Se muestran valores del test de ANOVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones.

Tabla 2. Estructura del pericarpio de los genotipos (G1 a G3) para el tratamiento de desecado con PAR y el Control en Venado Tuerto, experimento 5.

		Pericarpio			
Genotipo	Tratamiento	Espesor epidermis + hipodermis (um)	Espesor del esclerénquima (um)	Numero de capas del esclerénquima	Espesor máximo de la pared celular del esclerénquima (um)
G1	PAR	20 a*	259 a	9 a	8 a
	Control	23 a	260 a	10 a	9 a
G2	PAR	26 a	175 b	8 b	7 a
	Control	22 b	223 a	9 a	8 a
G3	PAR	23 b	107 b	6 a	4 a
	Control	33 a	149 a	6 a	4 a
G		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
T		0,0033	<0,0001	0,0029	0,2441
G x T		<0,0001	<0,0001	0,6268	>0,9999

\* Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Los valores subrayados indican efectos significativos ( $P < 0.05$ ). Ver figura 4.2. Se muestran valores del test de ANDEVA para el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y su interacción (G x T).

Tabla 3. Vigor de semillas de girasol medido a través de la aplicación de diferentes test: envejecimiento acelerado, peso seco de plántulas (PSPL) e índice IVE (Pre-humedecimiento frío) para los tratamientos de desecado con PAR, CM y Control de los genotipos (G1 a G3) en Venado Tuerto, experimentos 5 y 6.

Experimento	Genotipo	Tratamiento	Test de vigor		
			Envejecimiento Acelerado (%)	PSPL (mg/plántula)	IVE (Pre-humedecimiento)
5	G1	PAR	7 a*	34 a	10,0 a
		CM	11 a	33 a	10,6 a
		Control	1 a	33 a	3,6 b
	G2	PAR	43 a	50 a	8,5 a
		CM	35 a	58 a	8,2 a
		Control	24 a	48 a	8,8 a
	G3	PAR	1 a	50 a	9,0 a
		CM	2 a	43 b	8,9 a
		Control	1 a	45 b	3,9 b
6	G1	PAR	7 c	35 a	8,2 b
		CM	24 b	32 a	9,7 a
		Control	56 a	31 a	2,3 c
	G2	PAR	33 a	49 a	4,5 a
		CM	47 a	44 a	3,9 a
		Control	39 a	53 a	2,5 b
	G3	PAR	9 a	35 a	2,9 a
		CM	15 a	41 a	2,8 a
		Control	11 a	50 a	2,5 a
E			<0,0001	0,0580	<0,0001
G			<0,0001	<0,0001	<0,0001
T			0,1139	0,5690	<0,0001
E × G			0,0216	0,5605	<0,0001
E × T			0,0018	0,0236	0,2537
G × T			0,1533	0,3103	<0,0001
E × G × T			0,0271	0,0099	0,0009

\*Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos de desecado dentro de cada columna. Los valores resaltados indican efectos significativos ( $P < 0.05$ ). Se muestran valores del test de ANOVA para el experimento (E), el genotipo (G), el tratamiento de desecado (T) y sus interacciones.

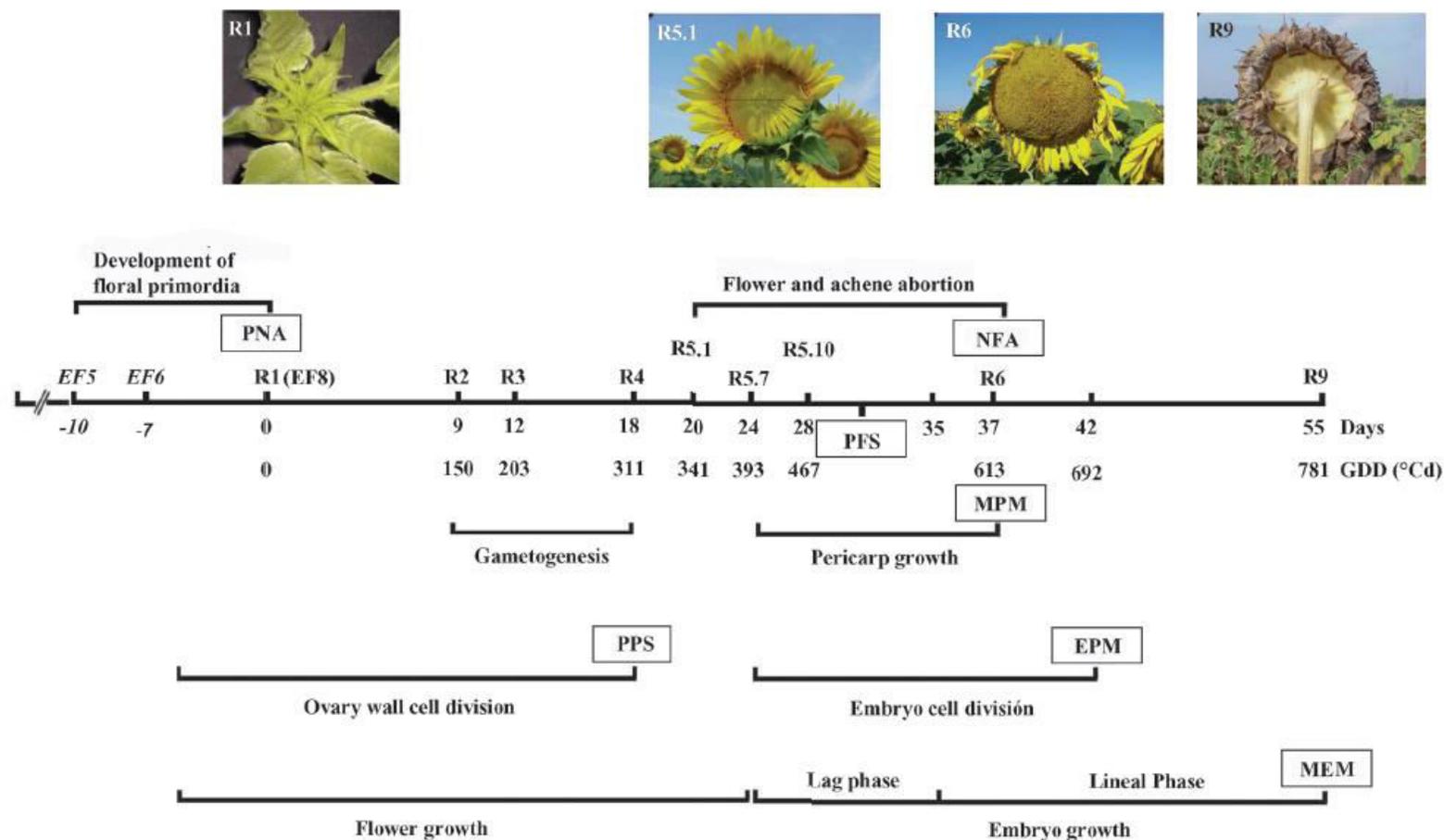


Figura 1. Modelo de desarrollo de girasol a partir de R1, en días (Days) y grados día (GDD; °Cd), propuesto por Lindström y Hernández (2015) comparando el período EF5 a EF8 (según la escala de Marc y Palmer, 1981) y el período de R1 a R9 (según la escala de Schneiter y Miller 1981). Abreviaturas: NFA: number of full achenes (número de aquenios llenos). PNA: potential number of achenes (número potencial de aquenios). PPS, pericarp potential size (tamaño potencial del pericarpio); PFS, pericarp final size (tamaño final del pericarpio); MPM, maximum pericarp mass (peso máximo del pericarpio); EPM, embryo potential mass (peso potencial del embrión); MEM, maximum embryo mass (peso máximo del embrión).