



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**CALIDAD FISIOLÓGICA DE LA SEMILLA DE SOJA (*Glycine  
max* L. Merr.), BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE  
ALMACENAMIENTO Y ENVASADO**

**MARLON IVÁN PARDO VARELA**

TRABAJO FINAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**Especialista en Producción de Semillas de Cereales, Oleaginosas y  
Forrajeras**

DIRECTOR: CARLOS GOSPARINI

CO- DIRECTOR: RAQUEL BENAVIDEZ

2016

**CALIDAD FISIOLÓGICA DE LA SEMILLA DE SOJA (*Glycine max* L. Merr.),  
BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ENVASADO**

Marlon Iván Pardo Varela

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional de Colombia

Éste trabajo final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado de Especialista en Producción de Semillas de Cereales, Oleaginosas y Forrajeras de la Universidad de Rosario y no ha sido previamente presentado para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. El mismo contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias en Zavalla, provincia de Santa Fe, durante el período comprendido entre junio de 2015 y junio de 2016, bajo la dirección del Dr. Carlos Gosparini.

---

**MARLON IVÁN PARDO VARELA**

---

**DRA. RAQUEL BENAVIDEZ**

---

**DR. CARLOS GOSPARINI**

Defendida: ..... de 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme la oportunidad de realizar esta maravillosa experiencia. También quiero agradecerle enormemente a mi Madre y mi familia, sin ellos todo el sacrificio, dedicación, y logros no serían posibles.

A mi director de Trabajo Final y amigo el Dr. Carlos Gosparini, que con su sabiduría, paciencia e incondicional disposición, me apoyó en todo sentido desde el momento que llegué al país.

A la Dra. Raquel Benavidez y mi amiga Nidia Montechiarini, que en todo momento ofrecieron su ayuda para cualquier situación que se me presentara.

A mi amiga, novia, esposa y compañera Irina Gómez, que siempre estuvo acompañándome, dándome aliento y fuerzas para terminar mi especialización de la mejor manera.

A las personas del laboratorio y de la cátedra de fisiología vegetal, que contribuyeron de alguna manera para que pudiera realizar este trabajo.

También agradezco a mis amigos de la especialización, que supieron guiarme, acompañarme, aguantarme y compartir conmigo en todo momento y de manera desinteresada.

## **DEDICATORIAS**

Dedico este trabajo principal y especialmente a mi Madre, quien me ha acompañado en todos los éxitos de mi vida, y que a pesar de la distancia estuvo siempre conmigo.

La dedicación puesta en éste trabajo, el tiempo invertido para lograr su culminación y todos los logros obtenidos durante el desarrollo de la especialización, se los dedico a Dios, porque estuvo siempre a mi lado acompañándome y guiándome en todo lo que hacía

## RESUMEN

Las semillas como ente vivo requieren conservar su viabilidad, germinación y vigor para asegurar el desarrollo de una nueva planta y su potencial de producción. La producción de soja (*Glycine max* L. Merr.) en Argentina, tiene como punto crítico de deterioro durante el período de madurez fisiológica a cosecha, las condiciones climáticas adversas relacionadas a períodos prolongados de lluvias, temperaturas templadas y alta humedad en el ambiente. Adicionalmente, la semilla almacenada respira oxígeno del ambiente, ocasionando como consecuencia y de acuerdo con la tasa de respiración, el deterioro de la misma. Otro aspecto es que la creciente expansión en la producción de semillas superó la capacidad de almacenamiento por sistemas tradicionales, obligando al productor a desarrollar nuevas estrategias de almacenamiento. Como una posibilidad para mantener la calidad fisiológica se propuso el método de almacenamiento al vacío, que limita el intercambio de aire y humedad con el ambiente. En estas condiciones, la respiración de la semilla agota el oxígeno remanente, y reduce su actividad metabólica, minimizando pérdidas de calidad y permitiendo que el almacenamiento pueda durar por más tiempo. En el presente trabajo se evaluó la calidad fisiológica de la semilla de soja bajo diferentes condiciones de almacenamiento y envasado. Se estableció si el envasado al vacío mantiene en el tiempo la calidad fisiológica de las semillas de soja. Y se determinó el momento para cada tratamiento en el que la semilla ya no cumplía con los estándares de calidad comercial. El ensayo se condujo en la Facultad de Cs. Agrarias de Zavalla, 33°01'S, 60°53'O. Se almacenaron semillas de soja de la variedad Agata (GMV) por un período de 12 meses en dos ambientes (cámara fría (C) a 4°C y galpón (G) a temperatura ambiente, (variando entre 9 y 29 °C durante el tiempo que duró el experimento) y dos condiciones de envasado (al vacío (V) y en bolsas de propileno (P) no herméticas). Los cuatro tratamientos analizados correspondieron a la combinación entre los ambientes y condiciones de envasado (CV, CP, GV, GP). Desde el inicio del experimento (t<sub>0</sub>) y cada 30 días consecutivos, se determinaron, sobre 900 simientes puras por tratamiento, los siguientes parámetros de calidad fisiológica: Poder Germinativo (PG), Energía Germinativa (EG, germinación a los 5 días), Vigor por envejecimiento acelerado (EA) y Humedad (H) de la semilla. Los resultados se

analizaron mediante ANOVA no paramétrica, realizando prueba de Kruskal – Wallis ( $F < 0,05$ ). Los tratamientos CP y CV tuvieron valores de PG de 80% desde  $t_0$  y hasta los 180 y 300 días de almacenaje (DDA), respectivamente; mientras que GP y GV tuvieron valores por debajo de 80% desde los 60 y 120 DDA, respectivamente; mostrando diferencias significativas a partir de los 180 DDA ( $F = 0,0482$ ). La EG para GV cayó desde 96% hasta 5,5% a partir de los 180 DDA, en tanto CV, CP y GP mantuvieron un valor promedio por encima de 90% hasta los 330 DDA; estadísticamente se encontraron diferencias a partir de los 180 DDA ( $F = 0,0236$ ). Para el vigor por EA, CV mantuvo valores por encima del 70% hasta los 210 DDA; diferente a CP, GV y GA donde presentaron un valor inferior al 70% después de los 30 DDA; a partir de los 120 DDA se detectaron diferencias significativas ( $F = 0,0119$ ). La condición de envasado V para ambos ambientes permitió conservar la H de la semilla cercana a la correspondiente al  $t_0$  (14,4%) durante todo el experimento; el análisis estadístico arrojó que desde los 30 DDA se detectaron diferencias significativas ( $F = 0,0032$ ). A partir de estos resultados se postula que el efecto de la temperatura, fluctuante en G (9 - 29°C), podría contribuir al deterioro de la calidad de las semillas observado para este ambiente. Se concluye que bajo las condiciones del ensayo, el tratamiento CV permitió conservar durante mayor tiempo la calidad fisiológica de las semillas de soja.

## ABSTRACT

The seeds as a living organisms need to preserve their viability, germination and vigor to ensure the development of a new plant and its production potential. The production of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in Argentina, has as critical deterioration points during the period of physiological maturity at harvest, the adverse climatic conditions related to prolonged periods of rains, temperate temperatures and high humidity in the environment. In addition, the stored seed breathe oxygen from the environment, causing as a consequence and according to the rate of respiration, the deterioration of seed. Another aspect is that the growing expansion in seed production exceeded storage capacity by traditional systems, forcing the producer to develop new storage strategies. As a possibility to maintain physiological quality, the vacuum storage method was proposed, which limits the exchange of air and humidity with the environment. Under these conditions, seed respiration depletes the remaining oxygen, and reduces its metabolic activity, reducing quality losses and allowing storage to last longer. In the present investigation the physiological quality of soybean seed under different storage and packaging conditions was evaluated. It was established whether vacuum packaging maintains the physiological quality of soybean seeds over time. And the time was determined for each treatment in which the seed no longer complied with commercial quality standards. The experiment was conducted at the Faculty of Cs. Agricultural Zavalla, 33 ° 01'S, 60 ° 53'O. Agata soybean variety (GMV) seeds were stored for a period of 12 months in two environments (cold chamber (C) at 4 ° C and storehouse (G) at ambient temperature (ranging between 9 and 29 ° C during the time of the experiment) and two packaging conditions (vacuum (V) and non-hermetic propylene bags (P)). the four treatments analyzed corresponded to the combination between environments and packaging conditions (CV, CP, GV, GP). Since the beginning of the experiment (t<sub>0</sub>) and every 30 consecutive days, the following parameters of physiological quality were determined on 900 seeds per treatment: Germination (PG), Germinative Energy (EG, germination at 5 days), Vigor by accelerated aging (EA) and humidity (H) of the seed. The results were analyzed used non-parametric ANOVA, using the Kruskal – Wallis test (F <0.05). The CP and CV treatments had values of 80% PG from t<sub>0</sub> and up to 180 and 300 storage of days,

respectively; while GP and GV had values below 80% from 60 to 120 storage of days, respectively; showing significant differences from 180 storage of days ( $F=0.0482$ ). The EG for GV fell from 96% to 5,5% at 180 storage of days, while CV, CP and GP maintained an average value above 90% to 330 storage of days; Statistically we found differences from the 180 ( $F=0.0236$ ). For the vigor by EA, CV kept values above 70% until 210 storage of days; different to CP, GV and GA where they had a value lower than 70% after 30 storage of days; from the 120 storage of days significant differences were detected ( $F=0.0119$ ). The packaging condition V for both environments allowed to conserve H seed close to the  $t_0$  (14.4%) throughout the experiment; the statistical analysis showed that from the 30 storage of days, significant differences were detected ( $F=0.0032$ ) were found. From these results it is postulated that the effect of temperature, fluctuating in G (9 - 29°C), could contribute to the deterioration of the quality of seeds observed for this environment. It is concluded that under the experiment conditions, treatment CV allowed the physiological quality of soybean seeds for a longer time.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	5
ABSTRACT .....	7
ÍNDICE .....	9
LISTA DE TABLAS .....	9
LISTA DE FIGURAS.....	9
INTRODUCCIÓN.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
TRATAMIENTOS .....	20
DETERMINACIONES DE LABORATORIO.....	21
% de humedad de la semilla (H) .....	21
Prueba De Germinación Estándar (PG).....	22
Viabilidad por tetrazolio (T) .....	22
Vigor .....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26
HUMEDAD DE LA SEMILLA.....	26
ENERGÍA GERMINATIVA.....	29
PODER GERMINATIVO.....	30
VIABILIDAD POR TETRAZOLIO Y VIGOR POR EL MÉTODO DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	35
CONCLUSIONES.....	36
BIBLIOGRAFÍA.....	37

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. RIESGO EN SEMILLAS POR TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN RELACIÓN AL CONTENIDO DE HUMEDAD. ....	15
TABLA 2. VALORES DE F MEDIANTE PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS DE LA HUMEDAD DE LA SEMILLA PARA LOS TRATAMIENTOS COMPARADOS ( $P<0,05$ ). ....	27
TABLA 3. VALORES DE F MEDIANTE PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS DE LA ENERGÍA GERMINATIVA PARA LOS TRATAMIENTOS COMPARADOS ( $P<0,05$ ). ....	30
TABLA 4. VALORES DE F MEDIANTE PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS DEL PODER GERMINATIVO PARA LOS TRATAMIENTOS COMPARADOS ( $P<0,05$ ). ....	31
TABLA 5. VALORES DE F MEDIANTE PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS DEL VIGOR POR ENVEJECIMIENTO ACELERADO PARA LOS TRATAMIENTOS COMPARADOS. ( $P<0,05$ ). ....	34

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. EMPLAZAMIENTO DEL LABORATORIO DE FISIOLÓGIA VEGETAL EN LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNR, ZAVALLA.....	19
FIGURA 2. TRILLADORA ESTÁTICA FORTI. ....	19
FIGURA 3. CLASIFICADORA C. PREUMAYR S.A. ....	20
FIGURA 4. MÁQUINA TURBOVAG MODELO 120 S, EMPLEADA PARA EL ENVASADO AL VACÍO. ....	21
FIGURA 5. A) CÁMARA FRÍA Y B) ESTANTE UBICADO EN GALPÓN. ....	21
FIGURA 6. MEDIDOR DE HUMEDAD FARMPRO. ....	22
FIGURA 7. A) ROLLOS DE PAPEL DE CADA TRATAMIENTO Y B) ROLLOS DISPUESTOS VERTICALMENTE EN LA CÁMARA DE GERMINACIÓN.....	22

FIGURA 8. A) SEMILLAS DE SOJA HIDRATADAS CON AGUA DESTILADA; B) SEMILLAS DE SOJA SUMERGIDAS EN LA SOLUCIÓN DE TETRAZOLIO Y PUESTAS EN INCUBACIÓN Y C) SEMILLAS DE SOJA TEÑIDAS Y EN PROCESO DE EVALUACIÓN. ....	23
FIGURA 9. A) CAPA DE SEMILLAS DE SOJA EN MINICÁMARA; B) MINICÁMARAS PUESTAS EN ESTUFA; C) PRUEBA DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR MEDIANTE CON EL MÉTODO DE ROLLOS DE PAPEL Y D) ROLLOS DE PAPEL DISPUESTOS VERTICALMENTE EN CÁMARA DE GERMINACIÓN. ....	24
FIGURA 10. A) CABEZAL MULTIELECTRODO, BOMBA Y DOSIFICADOR; B) BANDEJA MULTICELDADA; C) BANDEJAS DISPUESTAS EN CÁMARA A 23°C Y D) PROGRAMA DE COMPUTADORA QUE MIDE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	25
FIGURA 11. TEMPERATURA PROMEDIO MENSUAL REGISTRADA DENTRO DEL GALPÓN. ....	26
FIGURA 12. DATOS PROMEDIO DE LA HUMEDAD DE LA SEMILLA DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	26
FIGURA 13. HUMEDAD DE LA SEMILLA ALMACENADA EN GALPÓN, EN RELACIÓN CON LA TEMPERATURA PROMEDIO REGISTRADA DENTRO DEL MISMO. ....	28
FIGURA 14. ENERGÍA GERMINATIVA PARA CADA TRATAMIENTO. ....	29
FIGURA 15. PODER GERMINATIVO DE LA SEMILLA ALMACENADA DURANTE EL EXPERIMENTO.....	31
FIGURA 16. PORCENTAJES DE VIGOR POR EL MÉTODO DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO. ....	33

# **CALIDAD FISIOLÓGICA DE LA SEMILLA DE SOJA (*Glycine max* L. Merr.), BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ENVASADO**

## **INTRODUCCIÓN**

La soja es una especie originaria del sureste asiático, con dataciones de material de más de 4800 años de antigüedad; históricamente para Argentina en el año de 1909 se inician los primeros ensayos, pero a partir de la década del 70 protagonizó una fuerte expansión que modificó profundamente la estructura de la producción agropecuaria y agroindustrial en el país. Hoy en día, la cadena agroalimentaria de la soja se ha proyectado como uno de los sectores más dinámicos y pujantes de la economía nacional, siendo el principal cultivo sembrado y Argentina el primer exportador mundial de aceites y harinas de soja, además de ser el tercer exportador mundial de grano (Martino *et al.*, 2008).

La región pampeana con 450.000 km<sup>2</sup>, procesa y comercializa el 80% del total de la producción de soja nacional (Martino *et al.*, 2008). El total de área sembrada en el país en la campaña 2015/16 fue de 20,2 millones de hectáreas, acumulando una producción de 55,3 millones de toneladas, representando un rendimiento de 2,9 toneladas por hectárea (BCR, 2016).

Dentro de ésta gran cadena agroalimentaria, se encuentra la producción de semillas o simientes, la cuál es la base del cultivo y de la que se parte para garantizar una nueva reproducción o multiplicación de la variedad. Desde los inicios de la agricultura, ha existido la preocupación en la conservación de las semillas, para mantener su facultad de estar vivas, es decir, germinar y dar una producción de una siembra a otra; de ésta forma, el hombre reconoció la necesidad de almacenar, proteger y preservar las simientes (JICA, 2007).

De manera que, para garantizar la disponibilidad de las semillas tanto en cantidad como en calidad requerida, es imprescindible recurrir a su almacenamiento y conservación. Lo primero se refiere a concentrar la producción en lugares estratégicamente seleccionados; en tanto que la conservación implica proporcionar a los productos almacenados las condiciones necesarias para que no sufran daños por la acción de plagas, enfermedades o del ambiente, evitando

así mermas en su peso, reducciones en su calidad o en casos extremos la pérdida total (Ramírez, 1982).

Las semillas presentan propiedades fisiológicas que determinan su calidad, algunos parámetros de calidad son: poder germinativo, que se refiere a la capacidad de la semilla de germinar y producir una plántula normal bajo condiciones ambientales óptimas; se determina con una prueba de germinación estándar. Viabilidad, se remite a semillas viables que poseen el potencial de producir una plántula normal; se determina mediante la prueba topográfica de tetrazolio. Y vigor que se define como, la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y comportamiento de lotes de semillas de germinación aceptable en un amplio rango de ambientes; se determina por varios métodos como envejecimiento acelerado y conductividad eléctrica, entre otros (ISTA, 2003; 2015).

Las semillas deben conservar su viabilidad, germinación y vigor hasta el momento en que serán utilizadas, a fin de asegurar el desarrollo de una nueva planta y con ello la producción de más cosechas. Si una semilla pierde o reduce su capacidad para generar una nueva planta, debe ser utilizada sólo como grano. Así que, olvidar que la semilla es un ente viviente que respira oxígeno del ambiente y produce como resultado dióxido de carbono, agua y energía que se traduce en calor; da como consecuencia en la medida en que se acelere el proceso de respiración, el deterioro de la misma (Ramírez, 1982).

En la producción de semillas de soja, uno de los puntos críticos de deterioro es el riesgo por condiciones climáticas adversas. En las diferentes zonas productoras de semillas de Argentina, uno de cada cuatro años, se produce un significativo deterioro de la calidad de la semilla debido a las condiciones climáticas adversas, representadas con abundantes lluvias y altas temperaturas durante el período de madurez fisiológica a cosecha afectando la calidad de la semilla (Casini *et al.*, 1997).

Además, en los últimos 25 años, el almacenamiento en sistemas tradicionales (ambientes no controlados) ha crecido constantemente, acompañando y superando la expansión de la producción, pero aun así con un déficit importante. Este crecimiento se dio fundamentalmente al nivel del productor agropecuario, quien tomó la decisión de guardar lo producido en su propio campo y debió

desarrollar por sí mismo una estrategia de almacenamiento y control de calidad de sus granos (INTA, 2007).

La etapa de almacenamiento para la soja es una de las más delicadas, ya que es una especie cuyas semillas tienen una mayor susceptibilidad al envejecimiento (Delouche, 2005). Por tal razón, el ambiente de almacenamiento no debe tener una humedad relativa mayor que **65%** y una temperatura ambiente que no supere los **25°C**. En aquellas áreas donde su clima no permite obtener naturalmente estos valores, se debe climatizar el ambiente de almacenamiento (Casini, 2006).

Según Popinigis (1976), en el almacenamiento de semillas, dos factores son relevantes para afectar su calidad fisiológica: la humedad relativa del aire y la temperatura. La humedad relativa del aire promueve el aumento o reducción del contenido de humedad de la semilla, hasta el punto higroscópico. La temperatura influye en la velocidad de los procesos bioquímicos en la semilla; al elevarse se aceleran las actividades respiratorias de la misma.

La temperatura ha sido identificada como el factor externo más importante que influye en la tasa respiratoria. La tasa de las reacciones biológicas aumenta generalmente dos o tres veces por cada aumento de 10°C en la temperatura, dentro de los intervalos de temperaturas compatibles con la actividad celular (Fonseca *et al.*, 2002).

En cuanto a la humedad de la semilla, a mayor contenido de humedad hay mayor actividad microbiana y, por lo tanto, la tasa de respiración es mayor. Sin embargo, durante el almacenamiento hermético la tasa de respiración de la semilla húmeda puede desacelerarse más rápidamente que la de una relativamente más seca. Esto ocurre porque cuando la concentración de O<sub>2</sub> es menor que un determinado nivel crítico, se produce un cambio de respiración aeróbica a anaeróbica caracterizado por la desaceleración en la tasa de producción de CO<sub>2</sub> (Hyde y Oxley, 1960).

Durante el almacenamiento debe conservarse la calidad fisiológica del producto cosechado al menor costo posible, asegurando la calidad. Por esto resultan actividades fundamentales como: sanidad (S), limpieza (L), aireación (A) y

monitoreo (M); cuatro condiciones que constituyen el criterio del "SLAM" (INTA, 2007).

Para mantener la calidad fisiológica de la simiente se han desarrollado distintos métodos de almacenamiento, entre los que encontramos el hermético, que consiste en almacenar o envasar el producto limitando el intercambio de aire y humedad al producto. En estas condiciones, la respiración de la semilla y de los insectos agota el oxígeno remanente, provocando la muerte de estos últimos, generando una escasa actividad respiratoria, por lo que el almacenamiento de la simiente puede durar mayor tiempo sin que exista deterioro (Ramírez, 1982).

El uso de sistemas herméticos posibilita un almacenamiento seguro, libre de pesticidas y sostenible para muchos productos básicos y semillas, especialmente en climas cálidos y húmedos. La pérdida de calidad debido al aumento de los ácidos grasos libres (AGL) se impide a través de un ambiente con poco oxígeno lo que permite la conservación de semillas a largo plazo (Villers *et al.* 2006).

Sin embargo, en algunos casos la respiración de la semilla envasada al vacío se puede exponer en términos anaeróbicos o de fermentación. En este caso, la ausencia o limitada disponibilidad de O<sub>2</sub> activan otras vías metabólicas para la obtención de energía, siendo esta menos eficiente. Hay muchos tipos de fermentación que difieren en los productos finales que se obtienen a partir del piruvato (Campbell y Reece, 2007; Nelson y Cox, 2009).

El riesgo de deterioro por la condición que presenta la semilla de soja a almacenar respecto al tiempo de almacenamiento se muestra en la Tabla 1; y en cuanto al contenido de humedad, tal riesgo se define en términos de: bajo riesgo a semillas con humedad entre 12 y 13%; riesgo bajo-medio a semillas con contenido de humedad entre 14 y 16% y riesgo medio-alto a semillas con un porcentaje de humedad mayor a 16% (INTA, 2007)

Tabla 1. Riesgo en semillas por tiempo de almacenamiento en relación al contenido de humedad.

TIPO DE GRANO	BAJO	MEDIO	ALTO
Soja – Maíz- Trigo 13% Girasol 10%	6 meses	12 meses	18 meses
Soja – Maíz- Trigo 14-16% Girasol 11-14%	2 meses	6 meses	12 meses
Soja – Maíz- Trigo >16% Girasol >14%	1 mes	2 meses	3 meses

Fuente: (INTA, 2007).

En cuanto a los parámetros de calidad, la asemilla de soja debe comercializarse con un valor mínimo de 80% para el poder germinativo (INASE, 2003). Los semilleros y multiplicadores productores de semillas compiten y se diferencian comercializando semillas con PG superior al 80% y de excelente calidad, con valores entre 91 y 100%. Los límites de la pureza definidos por el INASE (2003) para semilla dados en porcentaje de peso son: valores mínimos de 98,5% para primera multiplicación registrada; 98% para segunda y tercera multiplicación certificada; y 97,5% para identificada.

Aunque no se exige la información de vigor como norma para la comercialización de la semilla de soja, las simientes que al realizarles la prueba de envejecimiento acelerado cuentan con un valor superior a 80%, presentan una calidad excelente para el mercado. Siendo este un criterio determinado por cada comercializador de semilla.

Complementando los parámetros mencionados, existe otra expresión con un valor fundamental denominada energía germinativa; refiriéndose al porcentaje de semilla de la prueba de germinación estándar que ha germinado en un tiempo determinado como período energético (Folliott y Thames, 1983).

El desarrollo de la agricultura fue una de las transiciones claves en la historia de la humanidad, la evolución de las formas vegetales que fueron seleccionadas y que luego se convirtieron en cultivos domesticados favorecieron al sedentarismo (Abbo *et al.*, 2012, 2014).

La domesticación es un proceso de múltiples pasos (Harris, 1989), consecuencia de los cambios morfológicos, genéticos y ecológico-adaptativos entre las plantas cultivadas en comparación con los de las poblaciones silvestres de las cuales derivan (Hancock, 2012; Zohary *et al.*, 2012). Los rasgos y cambios provocados por la domesticación asociada al hombre y en los que difieren las especies domesticadas de sus antecesores se denomina “síndrome de domesticación” (Harlan, 1971; Hammer, 1984). Además, están relacionados con el crecimiento temprano de las semillas sembradas e incluyen la pérdida de la inhibición de la germinación y el aumento de tamaño de la semilla (Abbo *et al.*, 2009).

El “síndrome de domesticación” proporciona un marco donde se resaltan un conjunto de caracteres que difieren entre los cultivos domésticos y sus antepasados silvestres (Harlan *et al.*, 1973; Hawkes, 1983; Zohary y Hopf, 2000; Gepts, 2004). Estos caracteres pueden estar relacionados con diferentes aspectos del cultivo en términos de lo que los hace evolucionar. Cabe señalar que el síndrome de domesticación difiere para distintos tipos de plantas de cultivo. (Zohary y Spiegel- Roy, 1975; Hather, 1996; Kislev *et al.*, 2006).

Una de las principales diferencias entre los progenitores silvestres de leguminosas respecto a las actuales especies domesticadas, se refiere a la tasa de germinación baja impuesta por la testa dura de estas (Ladizinsky, 1979, 1985; Werker *et al.*, 1979; Abbo *et al.*, 2009, 2014; Fuller y Allaby, 2009).

Adicionalmente y en relación con las características de resistencia al deterioro de la semilla de soja, se ha llegado a la conclusión que es una de las herramientas más efectivas para disminuir la incidencia de los factores adversos (climáticos y mecánicos) que afectan su calidad; tal resistencia al deterioro, en gran proporción, se manifiesta en el tegumento que recubre a la semilla (Potts *et al.*, 1978).

El tegumento de la semilla de soja consta de tres capas: la exterior, llamada epidermis, luego hipodermis y parénquima, la más interna. La epidermis es la que le confiere mayor resistencia y que protege a la semilla del efecto del daño mecánico y climático (Baskin, 2003; Chachalis, y Smith, 2001; y McDonald *et al.*, 1988). La resistencia al deterioro dada por la capa exterior, está ligada a una menor permeabilidad y resistencia al daño mecánico. La dureza de esta capa

también se relaciona con la mayor cantidad de lignina que la conforma (Álvarez *et al.*, 1997).

La epidermis esta compuesta por células isodiamétricas originadas en el momento de la fertilización. Durante el desarrollo y madurez de la semilla, estas células se elongan radialmente especialmente en la región del hilo. (Ma *et al.*, 2004).

El proceso de deterioro de las semillas de soja ha sido caracterizado por Delouche citado por Franca Neto y Henning (1984), como inexorable, irreversible y progresivo. Se define como un proceso que involucra cambios citológicos, fisiológicos, bioquímicos y físicos que, eventualmente, causan la pérdida de los parámetros de calidad y la muerte de la semilla. Este proceso está predispuesto y determinado por factores genéticos, sanitarios, ataques de insectos, condiciones ambientales en el período de posmaduración a precosecha, métodos de cosecha, procesamiento de las semillas, y así como de las condiciones de almacenamiento y de transporte.

El deterioro de los tejidos en la semilla no se produce de manera uniforme, si no que por lo general se inicia en áreas meristemáticas, especialmente en el meristema radicular. La reparación de los daños producidos durante el almacenamiento de las semillas, se produce durante la imbibición, lo que produce retraso en la germinación y la pérdida de vigor o incluso, si los daños son muy importantes, las semillas se muestran incapaces de germinar o la plántula muere después de hacerlo. Los daños producidos en el ADN son la causa de las malformaciones en las plántulas (Gálvez, 2003).

El deterioro de las semillas implica muchos cambios bioquímicos y fisiológicos, incluyendo la pérdida de la actividad enzimática, la pérdida de integridad de la membrana y alteraciones genéticas, aunque la causa exacta de la pérdida de viabilidad de las semillas todavía no está claro (Sung y Chiu, 1995).

El envejecimiento de la simiente también se asocia con la acumulación de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), siendo las más perjudiciales el radical superóxido ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo, que dañan las membranas celulares, enzimas y ácidos nucleicos (Sharma *et al.*, 2006). La peroxidación de los ácidos grasos insaturados, se considerada como una de las

principales razones ante la limitada capacidad de almacenamiento de las semillas de soja (Sung, 1996).

Una observación importante es que en condiciones de estrés las ROS se generan en la célula, pero al mismo tiempo la maquinaria celular combate estas ROS por mecanismos enzimáticos y no enzimáticos (antioxidantes) (He y Kermodé, 2010; Kibinza *et al*, 2011).

Con todo lo mencionado se puede afirmar que el almacenamiento de semillas de soja en instalaciones que no posean tecnología de ambiente controlado, aceleraría el deterioro de la calidad fisiológica. Por lo cual, se plantea que el envasado al vacío, podría minimizar el deterioro de la calidad fisiológica de la semilla de soja, como una posible alternativa para reducir tal pérdida en condiciones inadecuadas de almacenamiento.

Por tanto, los objetivos de este trabajo fueron:

- Evaluar la calidad fisiológica de la semilla de soja, bajo diferentes condiciones de almacenamiento y envasado.
- Establecer si el envasado al vacío mantiene en el tiempo la calidad fisiológica de las semillas de soja.
- Determinar el momento para cada tratamiento en el que la semilla ya no cumple con los estándares de calidad comercial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias ubicado en Zavalla, Santa fe (33°1'34.82"S-60°53'19.49"O) (Fig. 1).

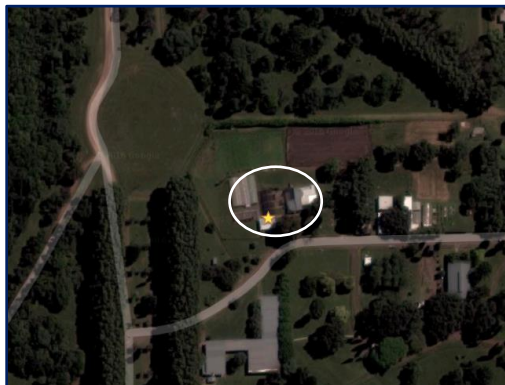


Figura 1. Emplazamiento del laboratorio de Fisiología Vegetal en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla.

El material vegetal utilizado para el ensayo, estuvo constituido por semillas de soja de la variedad Agata, perteneciente al grupo de madurez 5 (GMV), recolectada manualmente en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y procesada en trilladora estática Forti (Fig. 2), las simientes fueron pasadas por una zaranda manual y finalmente por una clasificadora C. PREUMAYR S.A. máquina No. 15191 (Fig. 3) con cribas para dos calibres de 5 y 7 mm.



Figura 2. Trilladora estática Forti.



Figura 3. Clasificadora C. PREUMAYR S.A.

Del producto procesado se separaron muestras de 900 semillas puras para realizar todas las determinaciones para cada tratamiento.

### **Tratamientos**

Los tratamientos se detallan a continuación y correspondieron a las combinaciones de dos ambientes de almacenamiento con las dos condiciones de envasado:

CP= Almacenamiento en cámara fría a 4°C y envasado en bolsa de polipropileno.

CV= Almacenamiento en cámara fría a 4°C y envasado al vacío en bolsa multicapa coextruída.

GP= Almacenamiento en galpón y envasado en bolsa de polipropileno.

GV= Almacenamiento en galpón y envasado al vacío en bolsa multicapa coextruída.

Para envasar al vacío las semillas se utilizó una máquina Turbovag modelo 120 S (Fig. 4a y b) y una bolsa multicapa coextruída.



Figura 4. Máquina Turbovac modelo 120 S, empleada para el envasado al vacío.

El almacenamiento de las semillas se realizó en condición de temperatura controlada y en galpón. En la primera condición la semilla se almacenó en una cámara fría (Fig. 5a) a la temperatura de 4°C, considerada óptima para la conservación de semillas ortodoxas a mediano plazo y correspondiente a la condición de banco de germoplasma activo para semillas de soja (Ellis *et al*, 1985). La segunda condición de almacenamiento fue en un estante ubicado en galpón (Fig. 5b), bajo condiciones ambientales no controladas. En el caso del galpón, se monitoreó la temperatura con sensores HOBO (Temp Logger de referencia H08-001-02) dispuestos para tal ambiente.



Figura 5. a) Cámara fría y b) Estante ubicado en galpón.

### **Determinaciones de laboratorio**

La calidad fisiológica de la semilla de soja almacenada, se midió a través de las siguientes variables.

% de humedad de la semilla (H): Se realizó con un medidor de humedad H-5 FARMPRO (Fig. 6), registrando el promedio de dos repeticiones de 50 semillas por tratamiento.

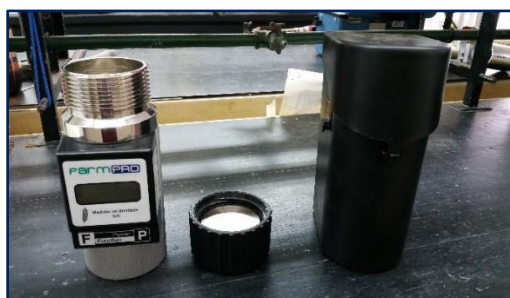


Figura 6. Medidor de humedad FARMPRO.

Prueba De Germinación Estándar (PG): Se empleó el método de siembra en papel (*Top Paper* - TP), con 4 repeticiones de 50 semillas; las que se distribuyeron uniformemente entre dos capas de papel (Wypall de 28x42 cm) previamente humedecido a saturación con agua destilada, haciendo rollos y colocándolos de forma vertical en la cámara de germinación a 25°C durante 8 días (Fig. 7). A los 5 días se realizó un primer conteo (energía germinativa, EA), y a los 7 días se efectuó el conteo de plántulas normales (intactas, con defectos leves, con infección secundaria), plantas anormales (dañadas, deformadas o desbalanceadas, podridas) y semillas no germinadas (duras, frescas y muertas) (ISTA, 2015).

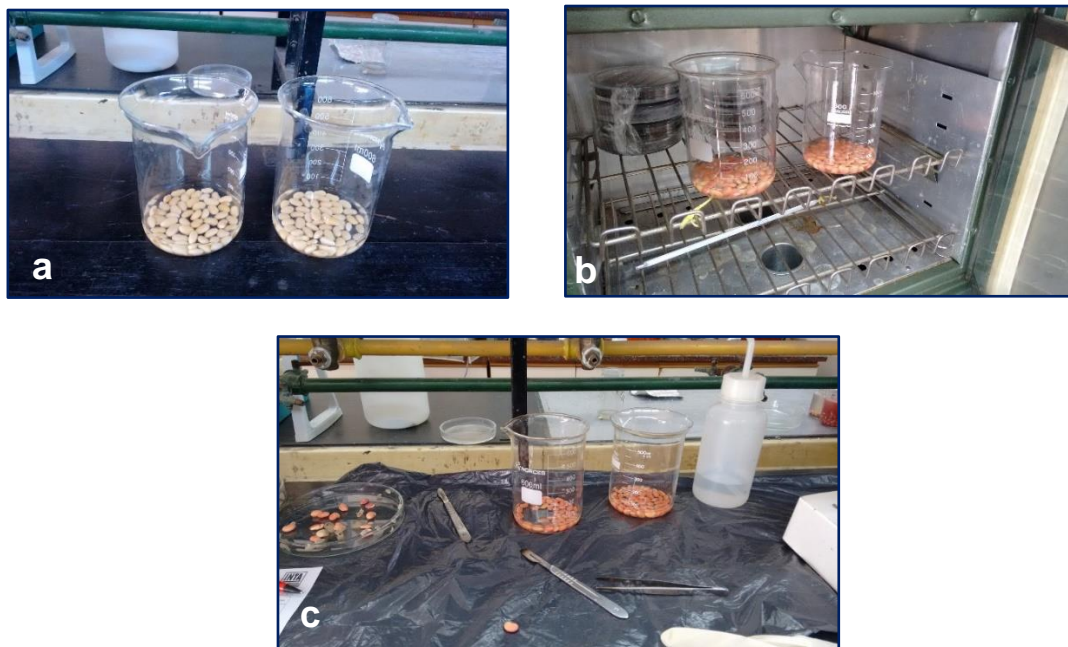


Figura 7. a) Rollos de papel de cada tratamiento y b) Rollos dispuestos verticalmente en la cámara de germinación.

Viabilidad por tetrazolio (T): Inicialmente se hidrataron 100 semillas de soja por tratamiento en recipientes con agua destilada durante 18 horas (colocándolos en una estufa a 35°C), luego éstas se sumergieron en la solución de sal 2,3-5 trifenil tetrazolio de concentración equivalente a 0,1% y se incubaron en oscuridad a 35°C durante 3 horas (Craviotto *et al*, 2011), para posteriormente evaluar cada semilla agrupada en repeticiones de 50 (ISTA, 2003) (Fig. 8):

- ✓ Se retiró el tegumento de cada semilla.
- ✓ Se observó la homogeneidad de la coloración.
- ✓ Se observó la turgencia de los tejidos.

- ✓ Se identificó la naturaleza de los daños.
- ✓ Se observó la localización y la profundidad de los colores y de los daños.
- ✓ Sobre esta base se obtuvo el porcentaje de viabilidad, de acuerdo con la siguiente clasificación: viable sin defectos, viables defectos leves, viables defectos moderados, viables defectos severos y no viables.



*Figura 8. a) Semillas de soja hidratadas con agua destilada; b) Semillas de soja sumergidas en la solución de tetrazolio y puestas en incubación y c) Semillas de soja teñidas y en proceso de evaluación.*

Vigor: Se realizaron dos pruebas, la primera con el método de **envejecimiento acelerado** (EA), que consistió en colocar una capa de 200 semillas por tratamiento (4 repeticiones) dentro de una minicámara de plástico (fabricada por CEREALTOOLS®). Se llevaron a una estufa en condiciones de alta temperatura (45°C) y alta humedad relativa (cercana al 100%) durante 48 horas (Fig. 9). La lenta hidratación y la gran actividad respiratoria provocada por la temperatura elevada originan el proceso de envejecimiento acelerado. Luego se evaluó el deterioro de las simientes por medio de una prueba de germinación estándar, empleando el mismo método descrito para tal determinación (ISTA, 2015).

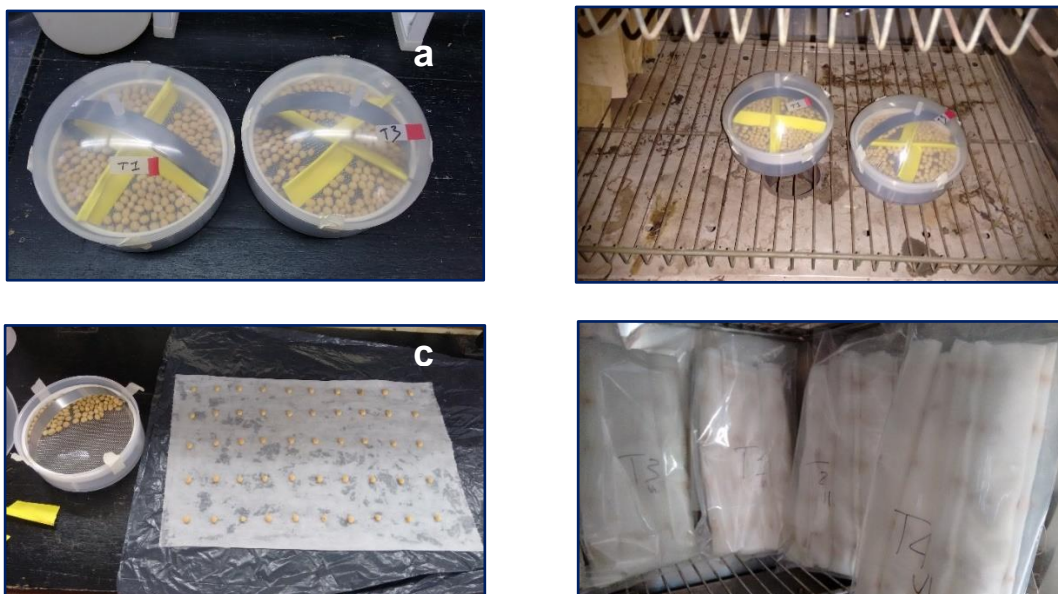


Figura 9. a) Capa de semillas de soja en minicámara; b) Minicámaras puestas en estufa; c) Prueba de germinación estándar mediante con el método de rollos de papel y d) Rollos de papel dispuestos verticalmente en cámara de germinación.

La segunda prueba se realizó determinando la **conductividad eléctrica** (CE) individual para estimar la integridad de las membranas celulares y su estado de deterioro. La conductividad se determinó en un analizador automático de semillas SAD 9000-S con N°. de serie 401 (Fig. 10): El equipo está compuesto por un dosificador, una bomba, un cabezal multielectrodo con 100 pares de estos, una bandeja multiceldada y una computadora con un programa que permite la medición de la lixiviación de electrolitos de semillas individuales y la manipulación de los datos obtenidos (INTA, 1997).

La prueba de vigor se hizo con una muestra de 100 semillas por tratamiento, colocadas en la bandeja con agua destilada. Las determinaciones de CE se realizaron en el tiempo cero y a las 24 horas de colocada la bandeja en una cámara a 23°C. Valores de mayor conductividad eléctrica indican mayor liberación de solutos de bajo peso molecular indicando semillas de menor vigor (INTA, 1997).

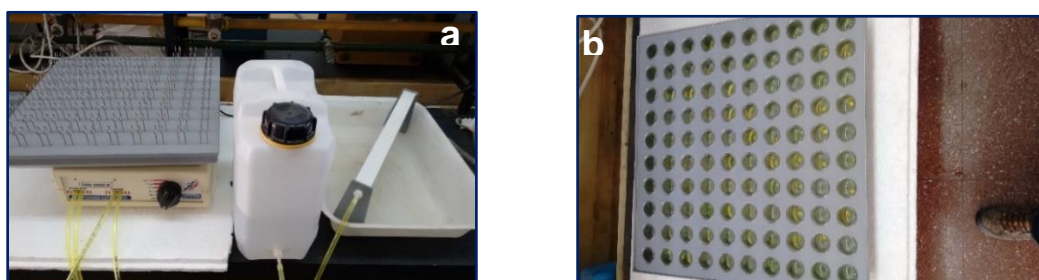




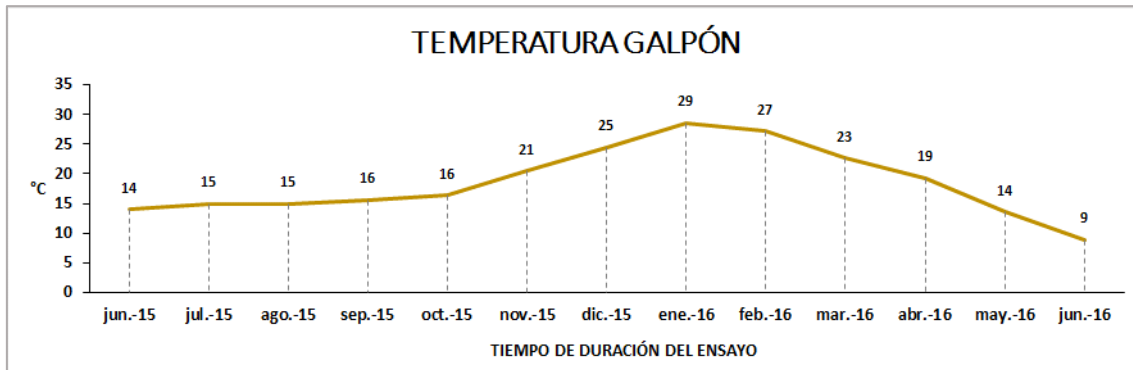
Figura 10. a) Cabezal multielectrodo, bomba y dosificador; b) Bandeja multiceldada; c) Bandejas dispuestas en cámara a 23°C y d) Programa de computadora que mide la conductividad eléctrica.

Para la medición inicial de las variables se consideró un tiempo cero ( $t_0$ ), estableciendo tal momento como el de mayor calidad fisiológica de la semilla; luego se continuaron las mediciones para cada variable durante un año con una frecuencia mensual.

Los datos de cada tratamiento luego de las doce determinaciones se analizaron con el paquete de diseño InfoStat (2008). Para cada variable se realizó prueba de normalidad de Shapiro-Wilks, se calcularon sus valores descriptivos y se realizaron análisis de varianza no paramétrica mediante la prueba de Kruskal - Wallis en cada momento de determinación, con un nivel de significancia del 5%. Se calcularon correlaciones entre las variables determinadas y la temperatura registrada en el galpón.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

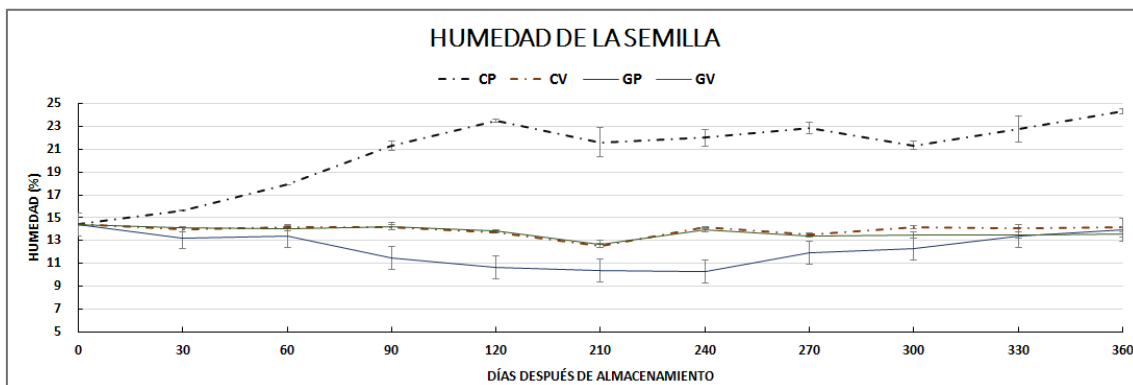
La semilla almacenada en el galpón estuvo influenciada por las condiciones ambientales, de manera que se registró la variación mensual de la temperatura dentro del galpón para el tiempo del experimento (Fig. 11).



*Figura 11. Temperatura promedio mensual registrada dentro del galpón.*

### Humedad de la Semilla

Como se aprecia en la Fig. 12, durante el período del experimento el contenido de humedad en la semilla para CV y GV se conservó similar al registrado en  $t_0$  (14,4%). En la misma figura se puede notar el incremento de la humedad para CP alcanzando un valor máximo de 24,35% y la pérdida de la misma para GP con contenidos de 10,05% de humedad.



*Figura 12. Datos promedio de la humedad de la semilla durante el almacenamiento.*

Según Gálvez (2003), cuando la humedad relativa en el almacenamiento de semillas se encuentra muy cercana al 100% y se produce un leve enfriamiento, se alcanza la saturación y la humedad se condensa en la superficie de las semillas. Si por el contrario se produce un aumento en la temperatura, la

humedad relativa decrecerá y, debido a la necesidad de permanecer en equilibrio con el ambiente, la humedad de la semilla también decaerá.

La ranura hilar o fisura central en el hilo actúa fisiológicamente como una válvula higroscópica activa. La fisura se abre cuando la humedad relativa es baja permitiendo que la semilla se seque, mientras que una alta humedad relativa hace que la fisura se cierre evitando la absorción de humedad (Hyde, 1954; Lush y Evans, 1980). Esto podría explicar el comportamiento de la humedad en la semilla envasada en polipropileno: Su incremento cuando la semilla estuvo almacenada en cámara de frío, y por el contrario, la pérdida de humedad de la simiente almacenada en galpón.

Sorour y Uchino (2004) establecieron que la semilla de soja se puede mantener durante 12 meses sin una disminución excesiva de su PG, si la temperatura se mantiene por debajo de 16°C y el contenido de humedad no es superior a 16,2%.

El análisis estadístico arrojó que desde los 30 días después de almacenamiento (DDA) se detectaron diferencias significativas. Los datos de F mostrados en la tabla 2, indican la significancia entre los tratamientos para cada tiempo de determinación.

*Tabla 2. Valores de F mediante prueba de Kruskal-Wallis de la humedad de la semilla para los tratamientos comparados ( $p < 0,05$ ).*

DDA	Cámara fría		Galpón		Significancia <i>F</i>
	<i>Polipropileno</i>	<i>Vacío</i>	<i>Polipropileno</i>	<i>Vacío</i>	
30	15,65	13,95	13,25	14,15	<b>0,0032</b>
60	17,90	14,15	13,35	14,05	<b>0,0041</b>
90	21,30	14,25	11,45	14,25	<b>0,0043</b>
120	23,50	13,75	10,65	13,85	<b>0,0032</b>
210	21,60	12,55	10,35	12,70	<b>0,0042</b>
240	22,00	14,15	10,30	13,90	<b>0,0023</b>
270	22,85	13,55	11,90	13,40	<b>0,0032</b>
300	21,35	14,20	12,25	13,50	<b>0,0025</b>
330	22,80	14,10	13,40	13,50	<b>0,0043</b>
360	24,35	14,15	13,90	13,55	<b>0,0025</b>

En la Fig. 13 se presenta la evolución de la temperatura del galpón para los tratamientos allí almacenados y la humedad de la semilla durante el experimento. Se puede observar un incremento de la temperatura a partir de los 90 DDA, y un descenso en los valores de humedad para la semilla almacenada en polipropileno; así mismo, cuando la temperatura baja alrededor de los 240 DDA, dicho tratamiento reacciona con el incremento en el contenido de humedad.

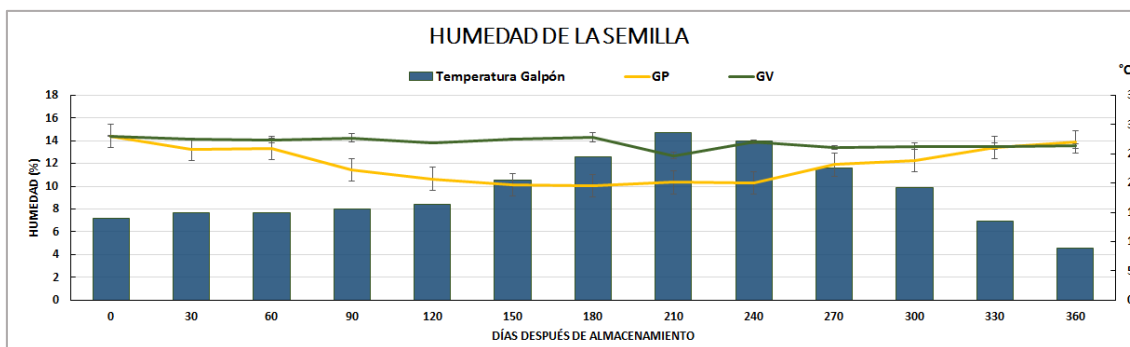


Figura 13. Humedad de la semilla almacenada en galpón, en relación con la temperatura promedio registrada dentro del mismo.

Toole y Toole, citados por Delouche (1973); estudiaron la longevidad de las semillas de soja asociada a la humedad y temperatura de almacenamiento, y observaron que las simientes almacenadas a 10°C y 9,4% de H, mantuvieron por más de 10 años el PG superior al 80%; almacenadas a 20°C por cinco años y a 30°C por un año. Semillas con 13,9% de H su PG disminuyó al 80% cuando se mantuvieron a 30°C, en dos años cuando fueron almacenadas a 20°C y a 10°C disminuyó su PG en cinco años.

Alencar *et al.* (2006), trabajando con soja a humedades de 11,2, 12,8 y 14,8% y temperaturas de 20, 30 y 40°C de almacenamiento, observaron una triple interacción entre la humedad, la temperatura y el período de almacenaje -similar a lo ocurrido en el ensayo para los tratamientos almacenados en el galpón-. Los resultados reportados demuestran que durante los 180 DDA se verificó que hubo una disminución en el porcentaje de semillas germinadas; esta tendencia fue menos pronunciada en semilla almacenada con 12,2 y 12,8% de humedad a 20°C de temperatura.

La fluctuación de la temperatura en el galpón sería posiblemente una causa importante de la pérdida de humedad de la semilla envasada en polipropileno y la actividad respiratoria de la semilla envasada al vacío. El incremento de la

temperatura ambiental generaría una actividad metabólica celular constante independientemente de la condición de envasado, deteriorando progresivamente la semilla. A su vez, se puede señalar que el incremento de la humedad en la semilla almacenada en cámara de frío y envasada en polipropileno, pudo generar también procesos respiratorios, contribuyendo al deterioro de la simiente.

### Energía germinativa

Como se observa en la Fig. 14, los valores de GV cayeron desde 96% hasta 5,5% a partir de los 180 DDA, mientras que CV, CP y GP mantuvieron un valor promedio por encima del 90% hasta los 330 DDA.

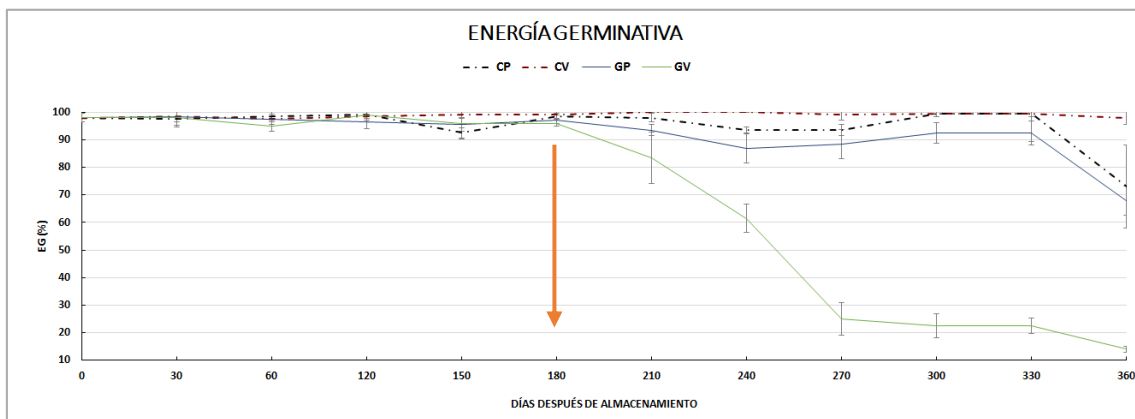


Figura 14. Energía germinativa para cada tratamiento.

Estadísticamente se encontró que a partir de los 180 DDA los tratamientos difieren significativamente (Tabla3).

Tabla 3. Valores de F mediante prueba de Kruskal-Wallis de la energía germinativa para los tratamientos comparados ( $p < 0,05$ ).

DDA	Cámara fría		Galpón		Significancia
	Polipropileno	Vacío	Polipropileno	Vacío	F
30	97,50	98,50	98,50	98,00	0,9670
60	97,50	98,50	98,50	98,00	0,9670
120	99,00	98,50	96,50	99,00	0,3433
150	92,50	99,00	95,50	96,00	0,0692
180	98,50a	99,00	97,00	96,00	<b>0,0236</b>
210	98,00	100,00	93,50	83,50	<b>0,0060</b>
240	93,50	100,00	87,00	61,50	<b>0,0032</b>
270	93,50	99,00	88,50	25,00	<b>0,0043</b>
300	99,50	99,50	92,50	22,50	<b>0,0047</b>
330	73,00	98,00	68,00	14,00	<b>0,0042</b>
360	46,50	96,50	43,50	5,50	<b>0,0051</b>

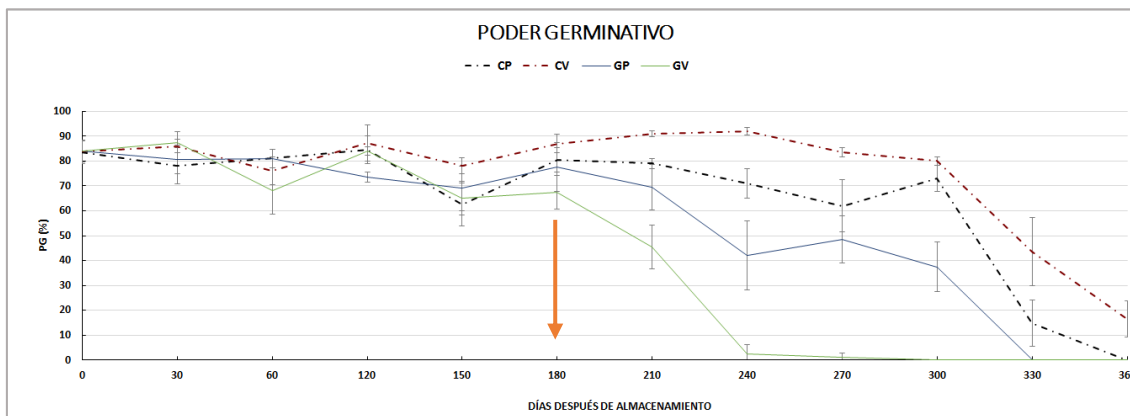
Como menciona Borrajo (2006), la EG es un parámetro muy útil porque nos da una idea de la cantidad de semilla que rápidamente emergerá en el campo, lo que garantizará el stand de plantas inicial, minimizando las pérdidas. Las plántulas que se originan de las semillas que germinan rápidamente constituyen el stock de plantación de mejor calidad (Folliott y Thames, 1983).

El tratamiento de la semilla almacenada en el galpón y envasada al vacío no garantizó el establecimiento de una adecuada población de plantas en campo; en contraposición a los demás tratamientos de almacenamiento que según los datos, logran mantener durante mayor tiempo semillas con la característica de desarrollar un cultivo de mejor calidad.

### **Poder germinativo**

Como se puede ver en la Fig. 15, la evolución del PG para los tratamientos CP y CV, arrojó valores de 80% desde el inicio de las determinaciones hasta los 180

y 300 DDA respectivamente, mientras que para GV y GP los valores estuvieron por debajo del 80% desde los 60 y 120 DDA respectivamente.



*Figura 15. Poder germinativo de la semilla almacenada durante el experimento.*

Los resultados observados en el análisis estadístico mostraron que a partir de los 180 DDA los tratamientos presentan diferencias significativas (Tabla4).

Tabla 4. Valores de F mediante prueba de Kruskal-Wallis del poder germinativo para los tratamientos comparados ( $p < 0,05$ ).

DDA	Cámara fría		Galpón		Significancia <i>F</i>
	Polipropileno	Vacío	Polipropileno	Vacío	
30	78,00	87,00	80,50	87,50	0,0820
60	78,00	86,00	80,50	87,50	0,0820
120	84,50	87,25	73,50	84,00	0,0332
150	62,50	78,00	69,00	65,00	0,0596
180	80,50	87,00	77,50	67,50	<b>0,0482</b>
210	79,00b	91,00	69,50	45,50	<b>0,0039</b>
240	71,00	92,00	42,00	2,50	<b>0,0027</b>
270	62,00	83,50	48,50	1,00	<b>0,0038</b>
300	73,00	80,00	37,50	0,00	<b>0,0026</b>
330	15,00	43,50	0,00	0,00	<b>0,0049</b>
360	0,00a	16,50	0,00	0,00	<b>0,0021</b>

El deterioro de la semilla que se produce ya sea por envejecimiento natural o acelerado (debido al aumento del contenido de humedad y la humedad relativa), ha sido estudiado por varios investigadores. Tales estudios revelaron que el proceso de envejecimiento y el deterioro en la viabilidad de la semilla son debidos principalmente a la producción y acumulación progresiva de especies reactivas de oxígeno ampliamente citadas como el principal factor que causa el envejecimiento de las semillas durante su almacenamiento prolongado (Priestley, 1986).

En general, se reconoce que las semillas almacenadas durante más tiempo son propensas al daño oxidativo debido al incremento acumulativo de ROS. Las especies reactivas de oxígeno actúan como un mensajero a concentraciones más bajas, y un aumento del umbral dañará los ácidos grasos poliinsaturados de fosfolípidos, ADN y las proteínas. Posteriormente, la pérdida de viabilidad y la germinación reducida de las semillas son las repercusiones del deterioro (Kranner y Colville, 2010).

Las semillas de soja almacenadas a temperatura ambiente, se someten a la peroxidación lipídica; la tasa de peroxidación de lípidos se expresa como malondialdehído formado, siendo un parámetro importante para cuantificar el grado de peroxidación lipídica en semillas ricas en contenido de ácido linoleico (Sung 1996). Los carbohidratos solubles generalmente disminuyen con el envejecimiento de la semilla (Petruzelli y Taranto 1989) y este descenso podría dar lugar a la limitada disponibilidad de sustratos respiratorios para la germinación (Sharma *et al.* 2005).

Según lo mencionado anteriormente por la literatura, es posible atribuir la disminución en los valores de PG para GV, CP y GP, en términos de pérdida de viabilidad y reducción en la germinación de las semillas, a la producción de ROS en altas concentraciones y a la peroxidación de los lípidos. Para estos últimos se realizó una determinación aproximada mediante la prueba de CE, teniendo en cuenta que evalúa la condición de las membranas plasmáticas, principal blanco de la peroxidación lipídica.

Además, en razón al incremento de la actividad respiratoria conforme al aumento de la temperatura de almacenamiento, y tomando en cuenta lo dicho por Marassi (2013), quien menciona que especies como la soja requieren de un contenido de

humedad mayor (50%) base peso fresco, para que ocurra la germinación; en todos los tratamientos excepto CV, el PG podría haberse afectado por el daño causado en el proceso de imbibición, ya que la semilla tenía un deterioro avanzado y no fue posible reparar la maquinaria celular con este proceso.

Los resultados obtenidos en el ensayo arrojan que el PG mostró una caída en los valores después de los 120 DDA para GV y GP. En este momento, la temperatura del galpón aumentaba en mayor grado; y al mismo tiempo la semilla en CP alcanzó uno de los valores máximos en contenido de humedad (20,3%). Esto coincide con Alencar *et al.* (2206), donde observó que la caída del poder germinativo fue más rápido y mayor a medida que se incrementa la temperatura o la humedad de almacenamiento.

### Vigor por el método de envejecimiento acelerado

En la Fig. 16 se muestra la evolución del EA en función de los días. CV mantuvo un valor de 70% hasta los 210 DDA; mientras que para las semillas en CP, GV y GP el envejecimiento disminuyó desde los 120 DDA.

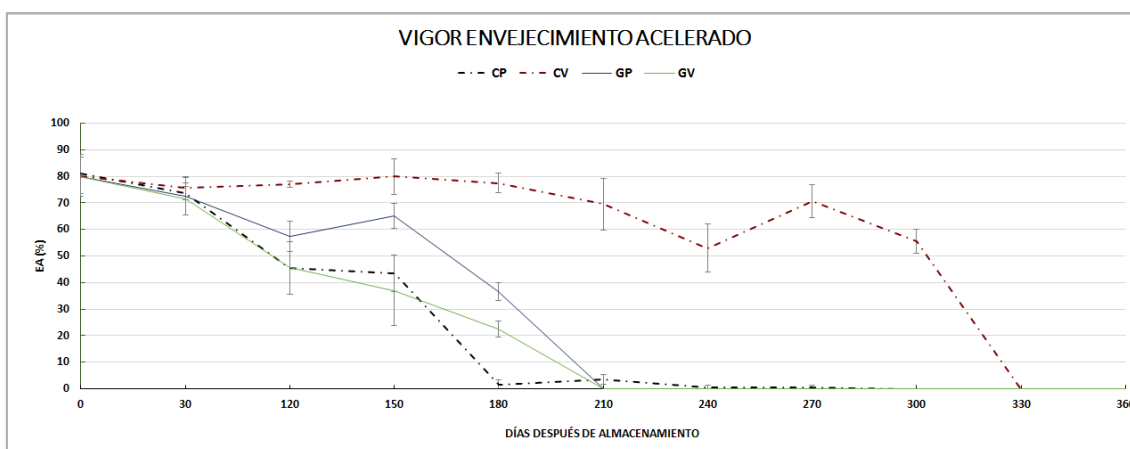


Figura 16. Porcentajes de vigor por el método de envejecimiento acelerado.

En la prueba de vigor por envejecimiento acelerado, las diferencias significativas se detectaron a partir de los 120 DDA, y a partir de los 300 DDA no se pudieron analizar los datos (Tabla5).

Tabla 5. Valores de F mediante prueba de Kruskal-Wallis del vigor por envejecimiento acelerado para los tratamientos comparados. ( $p < 0,05$ ).

DDA	Cámara fría		Galpón		Significancia
	Polipropileno	Vacío	Polipropileno	Vacío	F
30	73,50	75,50	72,50	71,50	0,7130
120	45,50	77,00	57,50	45,50	<b>0,0119</b>
150	43,50	80,00	65,00	37,00	<b>0,0052</b>
180	1,50	77,50	36,50	22,50	<b>0,0027</b>
210	3,50	69,50	0,00	0,00	<b>0,0023</b>
240	0,50	53,00	0,00	0,00	<b>0,0048</b>
270	0,50	70,50	0,00	0,00	<b>0,0048</b>
300	0,00	55,50	0,00	0,00	sd
360	0,00	0,00	0,00	0,00	sd

Costa *et al* (1979) manifiestan que el porcentaje de germinación y vigor de las semillas de soja almacenadas por seis meses, disminuye acentuadamente, debido probablemente a las reacciones progresivas de los tejidos deteriorados o dañados, que se encuentran asociados a las fluctuaciones de temperatura y humedad relativa del ambiente durante el almacenamiento.

La literatura indica que, cuando las semillas se conservan en condiciones normales y tienen aireación suficiente, prevalece la respiración aeróbica. Al respirar las semillas pierden peso, aumentando la humedad y el contenido de CO<sub>2</sub> en los espacios entre ellas. Cuanto más diversos sean estos procesos, mayor será la rapidez con la cual la semilla pierde su poder germinativo y vigor (Kononkov y García, citado por Mejía *et al.*, 1978).

Los cambios relacionados con los lípidos de las semillas durante el almacenamiento revelaron disminución de fosfolípidos y ácidos grasos poliinsaturados que conduce a una marcada disminución en el vigor de la semilla (Priestley y Leopold 1983).

En vista de lo mencionado, una posible explicación de los valores de vigor obtenidos por debajo del rango comercial mínimo en la soja (80%), para la semilla almacenada en galpón bajo las dos condiciones de envasado y para CP

son: la pérdida de humedad, el incremento en la temperatura y por consiguiente de la actividad respiratoria; ya que esto coincide con el momento en el que los valores de vigor empiezan a decaer.

### **Viabilidad por tetrazolio y vigor por el método de conductividad eléctrica**

Los datos obtenidos de la viabilidad y el vigor por el método de CE, no reflejan un comportamiento o tendencia de los resultados conforme los tratamientos. Las determinaciones de viabilidad por tetrazolio se realizaron según los protocolos de las reglas ISTA y ajustes descritos por Craviotto (2011); sin embargo, los porcentajes se ajustan más a una observación subjetiva, por lo que no fueron tomados en cuenta para el análisis de los resultados; de igual forma, los valores obtenidos con la prueba de vigor mediante la conductividad eléctrica, no manifestaron un efecto propio de los tratamientos, esto se atribuye posiblemente a factores que afectaron la semilla en el proceso de pos cosecha y/o fallas en el equipo de medición; de tal manera que tampoco fueron incluidos para el análisis final.

Debido a todo lo mencionado, se puede decir que la condición variable de la temperatura en el galpón genera daños irreversibles en toda la maquinaria celular de las semillas allí almacenadas, influyendo en su metabolismo, ADN, actividad enzimática y propiedades del tegumento. La semilla en GV aunque no perdió humedad, sí se deterioró más rápidamente. Además, tomando en cuenta las observaciones anotadas durante el ensayo, este tratamiento emitía un característico olor a descomposición durante las determinaciones de PG y EA.

La domesticación de la soja podría haber contribuido a la pérdida de la resistencia natural al deterioro atribuida al tegumento, actualmente las semillas cosechadas y posteriormente almacenadas no presenta ésta propiedad, por lo que la conservación de la calidad fisiológica es cada vez más compleja, y su pérdida cada vez más acelerada. Esto se intensifica si no se mantienen las condiciones óptimas de almacenamiento, como ambientes con temperatura y humedad controlada.

## **CONCLUSIONES**

A partir de estos resultados se postula que, bajo las condiciones del ensayo, el tratamiento correspondiente a la semilla almacenada en cámara de frío y envasada al vacío, permitió conservar durante mayor tiempo la calidad fisiológica de las semillas de soja.

El efecto de la temperatura fluctuante en el galpón podría contribuir al deterioro de la calidad de las semillas. Por lo que el almacenamiento al vacío requiere control de temperatura para que la semilla conserve la humedad de recibo, no se vea afectada por la temperatura ambiente y se mantenga en un nivel de hidratación donde se continúen las reacciones químicas e incremente la longevidad de las semillas.

Según los resultados obtenidos para el PG y EG podemos concluir que, el tiempo de almacenamiento, en las condiciones de temperatura y humedad analizadas en el presente trabajo, que permitan mantener la calidad fisiológica semilla de soja por encima de los estándares establecidos comercialmente, sería de 6 meses.

## BIBLIOGRAFÍA

**Abbo, S.; Saranga, Y.; Peleg, Z.; Lev-Yadun, S.; Kerem, Z., and Gopher, A. 2009.** Reconsidering domestication of legumes versus cereals in the ancient near east. *Q. Rev. Biol.* 84, 29–50.

**Abbo, S.; Lev-Yadun, S. and Gopher, A. 2012.** Plant domestication and crop evolution in the Near East: on events and processes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 31, 241–257.

**Abbo, S.; Pinhasi van-Oss, R.; Gopher, A.; Saranga, Y.; Ofner, I. and Peleg, Z. 2014.** Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends Plant Sci.* 19, 351–360.

**Alencar, E.R.; Faroni, L.R.; Peternelli, L.A.; Da Silva, M.T. and Moreira, S.I. 2006.** Soybean oil quality from grains stored under different conditions. *Proceeding of the 9<sup>th</sup> International Working Conference on Stored Product Protection.* Campinas, Brasil. Pp. 30-47.

**Álvarez, P.J.C.; Krzyzanowski, F.C.; Mandarino, J.M.G. and Franca-Neto, J.B. 1997.** Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. *Seed Science and Technology* 25(2): 209-214.

**Baskin, C.C. 2003.** Breaking physical dormancy in seeds- focussing on the lens. *New Phytologist* 158:285-303.

**BCR. Bolsa de Comercio de Rosario.** Consultado en diciembre de 2016. Recuperado de: <https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx>

**Borrajo, C. 2006.** Importancia de la calidad de las semillas. CONCURSO INTERNACIONAL EN GANADERÍA BOVINA SUBTROPICAL. Sitio Argentino de Producción Animal. 6 de Noviembre de 2006 Reconquista, Argentina.

**Campbell, N.A. y Reece, J.B. 2007.** *Biología. Médica panamericana.* 7° ed. 1351p.

**Casini, C.; Craviotto, R. y Giancola, S.M. 1997.** Calidad de la Semilla. En: *El Cultivo de Soja en la Argentina.* INTA, Centro Regional Córdoba, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos. Argentina. PP.: 89-102.

**Casini, C. 2006.** Soja: Producción y Calidad de la Semilla. INTA EEA Manfredi, Córdoba. Argentina. *Revista Científica agropecuaria* 2008.

**Chachalis, D. and Smith, M.L. 2001.** Seed coat regulation of water uptake during imbibition in soybean (*Glycine max* (L. Merr.). *Seed Science and Technology* 29: 401-412.

- Costa, N.P.; Mesquita, C.M. e Henning A.A. 1979.** Avaliação das perdas e quilidade de semente na colheita mecânica de soja. Revista Brasileira de Sementes 1(3): 57-70.
- Craviotto, R.M.; Arango, M.R. y Gallo, C. 2011.** Novedades de la prueba de viabilidad por Tetrazolio en soja. Laboratorio de Semillas EEA Oliveros INTA. Diciembre 2011
- Delouche, J.C. 1973.** Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science and Technology 2: 427-452.
- Delouche, J.C. 2005.** Thoughts and reflection on seed storage. Seeds News. The International Seed Magazine. Seed Science and Technology 29:401-412
- Dona, M.; Balestrazzi, A.; Mondoni, A. 2013.** DNA profiling, telomere analysis and antioxidant properties as tools for monitoring ex situ seed longevity . Annals of Botany 111: 987 – 998.
- Ellis, H.; Hongt, D. and Robertse, H. 1985.** Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol. I. Principles and Methodology. Handbooks for Genebanks: No. 2. IBPGR Secretariat, Roma, 210 pp.
- Folliott, F. y Thames, J. 1983.** Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de *Prosopis* en América Latina. Universidad de Arizona. Tucson, Arizona, E.E.U.U. Producido por el Departamento de Agricultura de la FAO.
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.R. and Brecht, J.K. 2002.** Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. Journal of Food Engineering. 52(2): 99-119.
- Franca Neto, J.B. e Henning, A.A. 1984.** Qualidade fisiologica e sanitaria de sementes de soja. Londrina, Brasil. EMBRAPA. Circular tecnica 9. 39 p.
- Fuller, D.Q. and Allaby, R. 2009.** Seed dispersal and crop domestication: shattering, germination and seasonality in evolution under cultivation. Ann. Plant Rev. 38, 238–295.
- Gálvez, C. 2003.** Almacenamiento y Conservación de Semillas. Material vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento. Consejería de Medio Ambiente. Junta Andalucía: 131-139.
- Gepts P. 2004.** Crop domestication as a long-term selection experiment. Plant Breeding Reviews. 24:1-44
- Hammer, K. 1984.** Das Domestikationssyndrom. Kulturpflanze 11, 11–34.
- Hancock, J.F. 2012.** Plant Evolution and Origin of Species, 3rd Edn. Wallingford: CABI.
- Harlan, J.R. 1971.** Agricultural origins: centers and noncenters. Science 174, 468–474.

- Harlan, J.R.; De Wet, J.M.J. and Price, E.G. 1973.** Comparative evolution of cereals. *Evolution*. 27:311-325.
- Harrington, J.F. 1972.** Seed storage and longevity. Pp. 145-245 in Kozlowski, T.T. (ed) *Seed biology*, volume 3. New York and London, Academic Press.
- Harris, D.R. 1989.** An evolutionary continuum of people-plant interaction. In: Harris DR, Hillman GC, editors. *Foraging and farming: the evolution of plant exploitation*. London: Routledge. Pp. 11-26.
- Hawkes, J.G. 1983.** *The diversity of crop plants*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Hather, J. 1996.** The origins of tropical vegiculture: Zingiberaceae, Araceae and Dioscoreaceae in Southeast Asia. In: Harris DR, editor. *The Origins and spread of agriculture and pastoralism in Eurasia*. London: UCL Press. p. 538-550.
- He, X. and Kermode, A.R. 2010.** Programmed cell death of the megagametophyte during post-germinative growth of white spruce (*Picea glauca*) seeds is regulated by reactive oxygen species and the ubiquitin-mediated proteolysis system. *Plant and Cell Physiology* 51: 1707 – 1720.
- Hyde E.O.C. 1954.** The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to ripening of the seed and the permeability of the testa. *Ann. Bot.* 18: 241–256.
- Hyde, M.B. and Oxley, T.A. 1960.** Experiments on the airtight storage of damp grain. *Annals of Applied Biology*. 48(4): 687-710.
- INASE. Instituto Nacional de Semillas, 2003.** Tolerancias para semilla fiscalizada e identificada de cereales y oleaginosas. RS-SAGYP-2270.
- InfoStat, 2008.** InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- INTA. Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria, 1997.** Analizador Automático de Semillas SAD 9000-S. Según normas ISO 9001:2008 e ISO 17025. Tecnología de Semillas generada por el INTA EEA Oliveros y Grupo Consultar.
- INTA. Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria, 2007.** PRECOP. Proyecto Nacional de Eficiencia de Cosecha y Pos cosecha de Granos. Actualización Técnica N° 32 Reimpresión. Diciembre 2007.
- ISTA. International Seed Testing Association, 2003.** Working Sheets on Tetrazolium Testing Vol 1. Agricultural, Vegetable & Horticulture Species. Edited by Leist, N; Kramer, S; Jonitz, A. Basserdorf, CH-Switzerland.

**ISTA. International Seed Testing Association, 2015.** International Rules for seed Testing. Including changes and editorial corrections Adopted at the Ordinary General Meeting 2014, Edinburgh, United Kingdom. Bassersdorf, CH-Switzerland.

**JICA. Japan International Cooperation Agency, 2007.** Conservación de semillas. “PROCESO” Proyecto de Capacitación y Extensión Agropecuaria Sostenible en Áreas Rurales de la República de Panamá. Material de Apoyo a La Guía de Extensión de Técnicas Apropriadas para Pequeños Productores. Entre el 2004 y 2007.

**Kibinza, S.; Bazin, J.; Bailly, C.; Farrant, J.M. and Corbineau, F. 2011.** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science* 181: 309 – 315.

**Kislev, M.E.; Hartmann, A. and Bar-Yosef, O. 2006.** Early domesticated fig in the Jordan Valley. *Science*. 312:1372-1374.

**Kranner, I. and Colville, L. 2010.** Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 72: 93 – 105.

**Ladizinsky, G. 1979.** The origin of lentil and its wild genepool. *Euphytica* 28, 179–187.

**Ladizinsky, G. 1985.** The genetics of hard seed coat in the genus *Lens*. *Euphytica* 34, 539–543.

**Lush, W.M. and Evans, L.T. 1980.** The seed coats of cowpeas and other grain legumes – structure in relation to function. *Field Crops Res.* 3 267–286.

**Ma, F.; Cholewma, E.; Mohamed, T.; Peterson, C.A. and Gijzen, M. 2004.** Cracks in the Palisade Cuticle of Soybean Seed Coats Correlate with their Permeability to Water. *Annals of Botany* 2004 94(2): 213-228.

**Marassi, M. 2013.** Corrección guía de estudio: Germinación de Semillas. Cátedra de Fisiología Vegetal. FaCENA. Departamento de Biología. UNNE.

**Martino, A.C.; Álvarez, E.; González, M.E. y Esposito, J. 2008.** Actualización 2014. Presencia de soja y sus derivados en alimentos de consumo masivo. Trabajo de investigación realizado en el marco del convenio de cooperación recíproca entre la Universidad de Concepción de Uruguay (UCU), y la Asociación de la Cadena de la Soja de la Argentina (ACSOJA).

**McDonald, M.R.; Vertucci, C.W. and Ross, E.E. 1988.** Seed coat regulation of soybean seed imbibition. *Crop Science* 28: 987-992.

- Mejía, V.; Romero, M. y Lotero, C. 1978.** Factores que afectan la germinación y el vigor de la semillas del pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) Revista ICA. Colombia 13: 503.
- Nelson, D.L. y Cox, M.M. 2009.** Lehinger Principios de Bioquímica. Ed. Omega, 2009, 5° ed. 1296p.
- Petruzelli L. and Taranto G. 1989.** Wheat ageing: the contribution of embryonic and non-embryonic lesions to loss of seed viability. *Physiol Plant.* 76: 289–294.
- Priestley D.A. and Leopold A.C. 1983.** Lipid changes during natural ageing of soybean seeds. *Physiol Plant.* 59: 467–470.
- Priestley, D.A. 1986.** Seed Ageing: Implications for Seed Storage and Persistence in the Soil. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Popinigis, F. 1976.** Preservação da qualidade fisiologica da semente durane o armazenamento. Brasília D.F. Brasil. EMBRAPA-CNPSO.
- Potts, H.C.; Duangpatra, J.J.; Hairston, W.G. and Delouche, J.C. 1978.** Some influences of hardseededness on soybean seed quality. *Crop Sci.* 18(2): 221-224.
- Ramírez, G.M. 1982.** Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Editorial CECOSA. México, D.F. 300 p. Recuperado de la ficha de Almacenamiento y conservación de granos y semillas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, pesca y alimentación. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. México.
- Sharma, S.; Virdi, P.; Gambhir, S. and Munshi S.K. 2005.** Changes in soluble sugar content and antioxidant enzymes in soybean seeds stored under different storage conditions. *Ind J. Agric Biochem.* 18: 9–12.
- Sharma, S.; Gambhir, S. and Munshi S.K. 2006.** Effect of temperature on vigour and biochemical composition of soybean seed during storage. *J Res Punjab Agric Univ.* 41: 34–38.
- Sorour, H. and Uchino, T. 2004.** Effect of changing temperature on the deterioration of soya beans. *Biosystems Engineering.* 87(4): 453-462.
- Sung, J.M. and Chiu C.C. 1995.** Lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes of naturally aged edible soybean seed. *Plant Sci.* 110: 45–52.
- Sung, J.M. 1996.** Lipid peroxidation and peroxide scavenging in soybean seeds during ageing. *Physiol Plant.* 97: 85–89.

**Villers, P.; De Bruin, T. and Navarro, S. 2006.** Development and applications of the hermetic storage technology. Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Working Conference on Stored Product Protection. Campinas, Brasil. Pp. 719-129.

**Werker, E.; Marbach, I. and Mayer, A.M. 1979.** Relation between the anatomy of the testa, water permeability and the presence of phenolics in the genus *Pisum*. *Ann. Bot.* 43, 765–771.

**Zohary, D. and Spiegel-Roy, P. 1975.** Beginnings of fruit growing in the Old World. *Science.* 187:319-327.

**Zohary, D. and Hopf, M. 2000.** Domestication of plants in the Old World. 3rd Edn. Oxford: Oxford University Press.

**Zohary, D.; Hopf, M. and Weiss, E. 2012.** Domestication of Plants in the Old World, 4th Edn. Oxford: Oxford University Press.