



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**TÉCNICAS INDUSTRIALES PARA SUPERAR LA
DORMICIÓN DE AQUENIOS EN UN HÍBRIDO
COMERCIAL DE GIRASOL**

MATÍAS CALAMARI

TRABAJO FINAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Especialista en Producción de Semillas de Cereales,
Oleaginosas y Forrajeras

DIRECTOR: CARLOS GOSPARINI

2019

TÉCNICAS INDUSTRIALES PARA SUPERAR LA DORMICIÓN DE AQUENIOS EN UN HÍBRIDO COMERCIAL DE GIRASOL

Matías Calamari

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional del Litoral

El siguiente 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 Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentado para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. El mismo contiene los resultados obtenidos en ensayos llevados a cabo en Venado Tuerto, provincia de Santa Fe, como así también análisis de germinación realizados en el laboratorio de Calidad de Semillas de la Empresa Laboratorio Agrícola en Venado Tuerto, provincia de Santa Fe, durante el período comprendido entre Marzo de 2018 y Septiembre de 2019, bajo la dirección del Dr. Carlos Gosparini y con el aporte de la Lic. Ivana Barbona.

MATÍAS CALAMARI

CARLOS GOSPARINI

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, esposa e hijas quienes, a pesar de mis ausencias para el cursado de la carrera, supieron apoyarme siempre incondicionalmente.

A la empresa, Nuseed SA quien hizo posible la realización de esta especialización, apoyándome económicamente y cediendo el tiempo necesario para la realización de la misma.

A mi director de Trabajo Final, Dr. Carlos Gosparini quien estuvo realmente dispuesto desde el día cero para apoyarme y guiarme en todo lo necesario para la realización del Trabajo.

A los señores Daniel y Mauricio Ali, propietarios de la planta de procesamiento de semillas “Maria Amelia” quienes hicieron posible llevar adelante el ensayo a pesar de las complicaciones que la realización del mismo conllevó.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE	4
LISTADO DE FIGURAS	5
LISTADO DE TABLAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
Planteo del problema	18
HIPOTESIS	20
OBJETIVOS	20
MATERIALES Y MÉTODOS	21
Producción de los aquenios	21
Tratamientos de los aquenios durante el almacenamiento	24
Análisis de Poder Germinativo y Viabilidad de los aquenios	28
Análisis estadístico	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
Distribución temporal de los tratamientos durante el almacenamiento	30
Evolución de la Humedad Relativa de los aquenios y temperatura intergranaria	32
Análisis de germinación de los distintos tratamientos	35
Dormición y viabilidad de los aquenios	37
Análisis por tratamiento	39
Dinámica de la superación de la dormición de los aquenios	42
Efectos de los tratamientos sobre la superación de la dormición de los aquenios	44
Aspectos fisiológicos de la superación de la dormición	46
Consumo de energía eléctrica de los tratamientos	49
Análisis de costos	50
CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFÍA	55

LISTADO DE FIGURAS

- Fig. 1.** Difusión del girasol cultivado desde el Siglo XVI hasta su introducción en Argentina (tomado de ASAGIR, 2019).11
- Fig. 2.** A) Imagen de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO. B) Aquenios disectados, en el pericarpio (izquierda) y la semilla (derecha).....12
- Fig. 3.** Fórmula estructural de la molécula de S-(+)-ABA...15
- Fig. 4.** Imagen del lote de producción del híbrido Nusol 4510 CLAO en Coronel Pringles (Buenos Aires) durante la campaña 2017/2018. A) distribución de las líneas androestériles y las polinizadoras. B) Plena floración del lote productivo.22
- Fig. 5.** Datos ambientales de Temperatura promedio (°C) y Humedad Relativa promedio (%) en Coronel Pringles (Buenos Aires) durante el período comprendido entre el 17/01/2018 y el 15/03/2018 (Fuente: meteoblue Aeroclub Coronel Pringles. 38° 01´ S/ 61° 33´ W. 266 msnm).....23
- Fig. 6.** A) disposición de la manga de aireación central de los silos donde se colocaron los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO. B) Silos de 30000 kg con los aquenios dispuestos para los distintos tratamientos. C) Big bag conteniendo 800 kg de aquenios de girasol, ubicado en el mismo ambiente donde se encontraban los tres silos de tratamientos.....24
- Fig. 7.** A) Equipo de refrigeración Imeg modelo #52GA-200, empleado para insuflar aire frío y seco (10 °C - 50 % HR) a los aquenios de girasol en los tratamientos T1 y T2. B) Detalle de la manga de insuflado de aire frío y seco en los tratamientos T1 y T2.....25
- Fig. 8.** A) El silo de la izquierda corresponde al T2, en tanto el de la derecha al T1, ambos comparten el suministro de aire frío y seco, el cual ingresa al interior mediante mangas de refrigeración que son vinculadas al equipo a través de una válvula de doble vía. B) Válvula de doble vía.....26
- Fig. 9.** Silo correspondiente al T3, el cual consistió en el insuflado del aire a condiciones ambientales durante 89 h26
- Fig. 10.** Datos ambientales de Temperatura (máxima, mínima y promedio, °C) y Humedad Relativa (promedio, %) en Venado Tuerto (Santa Fe) durante el período comprendido entre el 01/03/2018 y el 30/06/2018 (Fuente: meteoblue Venado Tuerto, 33° 76´ S/ 61° 97´ W. 103 msnm).....27
- Fig. 11.** Semillas viables de girasol Nusol 4510 CLAO sometidas a prueba topográfica de tetrazolio.....28
- Fig. 12.** Distribución temporal de los tratamientos de insuflado de aire a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO. A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) alternancia de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y aire a condición ambiente, C) aire a condición ambiente.....31

- Fig. 13.** Evolución de la Humedad Relativa de los aquenios y de la Temperatura intergranaria en función del tiempo de tratamiento para aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO que fueron insuflados con A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) con alternancia de aire frío y seco y aire a condición ambiente, C) con aire a condición ambiente y D) Testigo, sin tratamiento.....**33**
- Fig. 14.** Evolución del porcentaje de germinación de aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO dispuestos en cuatro condiciones de almacenamiento. (T1) flujo constante de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) durante 30 días. (T2), flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) con aire a condición ambiente durante 32 días. (T3), flujo constante de aire a condición ambiente durante 32 días. Testigo (T0), aquenios en condición ambiente.....**36**
- Fig. 15.** Porcentaje de germinación (barras verdes) y viabilidad medida por tinción con tetrazolio (barras rojas) para distintos tiempos de tratamiento de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a insuflado con A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) con alternancia de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y aire a condición ambiente, C) con aire a condición ambiente y D) Testigo, sin tratamiento**38**
- Fig. 16.** Ajuste de la evolución del porcentaje de germinación de aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO según el modelo de Regresión Spline en función del tiempo de almacenamiento para cuatro condiciones de tratamiento. (A) flujo constante de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento. (B), flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento. (C), flujo constante de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento y (D) Testigo, aquenios en condición ambiente. El rectángulo punteado debajo del eje de las abscisas en A, B y C corresponde al período del almacenamiento durante el cual se realizaron los respectivos tratamientos. Las líneas de punto negro horizontales corresponden al 85 %G y las verticales a su proyección sobre el eje de las abscisas de acuerdo al valor predicho según la ecuación de ajuste correspondiente. Las líneas de punto rojas corresponden al momento medido en el cual se alcanzó, efectivamente el 85 %G.....**41**
- Fig.17.** Porcentaje de germinación para el día 37 de almacenamiento, de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a los siguientes tratamientos: (T0) aquenios en condición ambiente, (T1) aquenios sometidos a flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento, (T2) aquenios sometidos a flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento y (T3) aquenios sometidos a flujo de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento. Letras distintas indican diferencias significativas, Tukey ($p < 0,01$).**43**

LISTADO DE TABLAS

- Tabla 1.** Nivel de dormición, viabilidad y comportamiento frente al tratamiento empleado (aplicación aire a 10 °C - 50 %HR) en la Empresa Nuseed SA para superar la dormición del híbrido Nusol 4510 CLAO durante tres años consecutivos**21**
- Tabla 2.** Tiempo de exposición de los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO a los distintos tratamientos de insuflado de air.....**32**
- Tabla 3.** Valores promedio de Humedad Relativa de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO y Temperatura intergranaria para el período de tiempo al que fueron expuestos los aquenios durante los distintos tratamientos**34**
- Tabla 4.** Tiempo de almacenamiento, número de determinaciones del porcentaje de germinación (%G) y valores de %G inicial y final de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a distintas condiciones de almacenamiento.**37**
- Tabla 5.** Días de tratamiento efectivamente medidos y calculados utilizando las ecuaciones de ajuste correspondientes, para alcanzar el 85 % de germinación de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a distintas condiciones de tratamiento**42**
- Tabla 6.** Consumo de energía de los distintos tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO durante su almacenamiento...
.....**49**
- Tabla 7.** Costo de energía de los distintos tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO durante su almacenamiento.
.....**50**
- Tabla 8.** Costo de energía real y teórico (calculados utilizando el equipo a máxima capacidad) expresado en dólares estadounidenses (U\$S) por bolsa para cada uno de los tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO.**51**

RESUMEN

La presencia de altos niveles de dormición en frutos de girasol constituye una dificultad en las etapas de procesamiento e impide su utilización inmediata como semilla, por tal motivo, resulta crucial contar con mecanismos a nivel industrial que permitan superar anticipadamente la dormición de aquenios de girasol. En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar 3 técnicas industriales para superar anticipadamente la dormición de aquenios de un híbrido comercial de girasol y a su vez, evaluar el costo operativo de cada una de ellas. Para tal fin, se seleccionó un lote de producción de semilla híbrida del material Nusol 4510 CLAO, el cual posteriormente a su cosecha fue trasladado hasta una planta procesadora y dispuesto en 3 silos en proporciones similares (~30000 kg) y se procedió a iniciar con los tratamientos. Los mismos fueron; T1, aplicación de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento; T2, aplicación alternada de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento; T3, aplicación de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento; T0, aquenios depositados en contenedor big bag a condición ambiente, sin aireación. Periódicamente se extrajeron muestras de aquenios de cada tratamiento y se enviaron a un laboratorio de análisis de semilla para realizar poder germinativo y prueba topográfica por tetrazolio. También se registraron datos de humedad de los aquenios y temperatura intergranaria. A los datos obtenidos se les realizó un análisis de regresión segmentada utilizando el Modelo de Regresión Spline para el análisis de las variables. También se realizó análisis de la varianza para tiempos de almacenamiento definidos y las diferencias entre las medias se compararon con un Test de Tuckey con un nivel de significancia de 0,01. El T1 arrojó diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) con respecto a los demás tratamientos logrando acortar a 37 la cantidad de días necesarios para alcanzar 85 %G Vs. los 58 y 81 días insumidos por el T2 y T3 respectivamente. Los tratamientos T2 y T3 no arrojaron diferencias significativas entre sí. El T0 se diferenció significativamente del resto de los tratamientos, no logrando superar el 85 %G en el periodo que duro el ensayo. Con respecto al análisis de costo económico se comprobó que la utilización de cualquiera de estas técnicas no tiene impacto significativo en el valor final de la bolsa comercial. Finalmente se concluyó que la técnica de aplicación de aire frío y seco (10 °C y 50 % HR) fue la más eficiente para reducir la cantidad de días necesarios para superar la dormición de los aquenios del híbrido de girasol evaluado y que el costo de su utilización, no tiene impacto significativo en el costo final por bolsa.

ABSTRACT

The presence of high level of dormancy in the sunflower fruits constitutes a difficulty in the processing stages and prevents them from the immediate utilization as seeds. For all these, it is crucial to have mechanisms at the industrial level that allow overcoming the dormancy of sunflower achenes in advance. In this context, the objective of this work was to evaluate three industrial techniques to overcome the dormancy of sunflower achenes of a commercial hybrid in advance, and then, evaluate the operating cost for each of them. For this purpose, a hybrid seed production plot of Nusol 4510 CLAO was selected, which was transferred to the processing plant after harvesting, and stored in three bins with the same quantity each. Then, the following treatments were applied; T1, application of cold (10 ° C) and dry (50% RH) air during the first 30 days of storage; T2, alternating application of cold (10 ° C) and dry (50% RH) air with environmental air during the first 32 days of storage; T3, application of air at environmental condition during the first 32 days of storage and T0, achenes storage in a big bag container under environmental conditions without air applied. Samples of achenes were periodically extracted from each treatment and they were sent to the seed testing laboratory to evaluate germination and make tetrazolium topographic testing. Then, the data of moisture and intergranary temperature were taken. From the data obtained, a segmented regression analysis was done; using the Spline regression model for analysis of the variables. An analysis of the variance was also done in set storage times, and the differences between the middles were compared by Tuckey test at the 0,01 level. The T1 showed high significant differences ($p < 0,01$) in comparison to the rest of the treatments, shortening at 37 the necessary days to reach 85 %G in contrast to the 58 and 81 days needed for T2 and T3, respectively. The treatments T2 and T3 did not show significant differences between them. The T0 was significantly different concerning the others treatment, which did not reach the 85 %G during the test period. Regarding the economic cost analysis, it was found that the use of any of these techniques did not have a significant impact on the final value of the commercial bag. Finally, it was concluded that the cold and dry air application technique (10 °C and 50% RH) was the most efficient method to shorten the number of days needed to overcome the dormancy of the achenes of the sunflower hybrid evaluated, and that the cost of this technique did not have a significant impact on the final cost per bag.

INTRODUCCIÓN

Girasol: su introducción en Argentina

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es una especie dicotiledónea anual, herbácea, estival y su número cromosómico es $2n = 34$. Pertenece a la familia Asteraceae (Compositae), subfamilia Asteriodae, tribu Helianthae, subtribu Helianthinae, género *Helianthus* (Selier y Rieseberg, 1997). El género *Helianthus* comprende 36 especies perennes y 12 herbáceas anuales (Schilling and Heiser, 1981). *H. annuus* está compuesto por tres subespecies: *H. annuus* ssp. *macrocarpus* (el girasol cultivado), *H. annuus* ssp. *lenticularis* y *H. annuus* ssp. *annuus*, ambos parientes silvestres del cultivado.

La familia botánica probablemente se originó en América del Norte hace 30 a 100 millones de años (Raven and Axelrod, 1974). El girasol cultivado comenzó su domesticación hace aproximadamente 3000-4000 años en el centro-oeste de EEUU de Norteamérica (Crites, 1993; Harter et al., 2004; Smith y Yarnell, 2009; Cantamutto et al., 2010) aunque estudios recientes sugieren que el centro de origen más antiguo se ubica en México (Bye et al., 2009). Se introdujo en Europa durante el siglo XVI, difundiéndose gradualmente hacia Rusia como cultivo oleaginoso y la reintroducción en América ocurrió en la segunda mitad del siglo XIX (Selier y Rieseberg, 1997).

En Argentina, su llegada data del siglo XIX, siendo introducido por colonos de origen hebreo quienes lo cultivaban para consumo propio y con fines ornamentales. No fue un cultivo de importancia hasta la década del 1930, donde se difundió ampliamente como cultivo oleaginoso (ASAGIR, 2019. Fig. 1).



Fig. 1. Difusión del girasol cultivado desde el Siglo XVI hasta su introducción en Argentina (tomado de ASAGIR, 2019).

Producción de Girasol en Argentina.

El girasol constituye una alternativa en la rotación de cultivos estivales en Argentina y una de las escasas opciones de producción en ambientes desfavorables. En la región semiárida y subhúmeda pampeana el déficit hídrico es la mayor restricción a la producción agrícola, donde las altas temperaturas estivales, acompañadas de elevadas tasas de evaporación de agua condicionan el rendimiento de los cultivos. El girasol es moderadamente tolerante al estrés hídrico, debido a que posee un sistema radicular bien desarrollado. Esta ventaja le proporciona estabilidad a la producción agrícola en estas regiones con deficiencias hídricas (Montoya, 2016).

El producto comercial de girasol no es estrictamente una semilla, a pesar de utilizarse dicha denominación habitualmente. En realidad, se trata de un fruto, estrictamente un aquenio, que está constituido por la semilla y el pericarpio del fruto (Fig. 2).



Fig. 2. A) Imagen de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO. B) Aquenios disectados, en el pericarpio (izquierda) y la semilla (derecha).

El peso del aquenio oscila entre 35 y 70 mg, el pericarpio o cáscara representa el 20-25 % del peso seco del mismo. El contenido de materia grasa varía entre 42 y 55 % y las proteínas entre 9 y 20 % (Satorre et al., 2012).

El girasol es uno de los cultivos oleaginosos más importantes a nivel mundial, su producción global oscila en torno a las 27-30 millones de toneladas. En este contexto, Argentina se encuentra dentro de los cuatro principales productores de girasol a nivel mundial, detrás de Rusia, Ucrania y la Unión Europea y es el único de mayor importancia en el hemisferio sur (ASAGIR, 2019).

La producción de girasol es destinada principalmente a molienda de la cual se obtiene aceite refinado para consumo humano, aceite crudo destinado a la producción de biodiesel y harinas y pellets de alto valor proteico (Paniego et al., 2007), constituyendo el principal objetivo el rendimiento en aceite por unidad de superficie (Agüero et al., 1999).

Mejoramiento genético de girasol

El girasol silvestre es una especie alógama y autoincompatible, aunque su domesticación y mejoramiento hizo posible la autopolinización y el aumento de tamaño, vigor y número de aquenios por capítulo.

Diversas especies silvestres del género *Helianthus* han sido importantes fuentes de genes a lo largo del proceso de mejoramiento del girasol cultivado,

contribuyendo a la identificación de genes de resistencia a enfermedades, tolerancia a sequía, esterilidad citoplasmática masculina (ECM) y otras características de interés agronómico (Jan et al., 1998). Los cruzamientos interespecíficos entre *H. annuus* x *H. petiolaris* permitieron la combinación de la ECM de *H. petiolaris* y de los genes restauradores de la fertilidad de *H. annuus*, dando lugar al desarrollo de la industria de la semilla híbrida de girasol (Fick y Zimmer, 1976).

El alto grado de parentesco entre el girasol silvestre y cultivado facilita la hibridación interespecífica, habiéndose comprobado la misma incluso a distancias superiores a los 1000 metros (Ureta, 2010; Arias y Rieseberg, 1994). Si bien actualmente existen cerca de 80 eventos transgénicos de girasol autorizados para pruebas a campo (con incorporación de tolerancia a glifosato y resistencia a lepidópteros y enfermedades fúngicas), la simplicidad de hibridación interespecífica determina que aún estos materiales genéticamente modificados no estén comercialmente disponibles (Ureta, 2010). En este sentido, los progresos en mejoramiento genético tradicional permitieron desarrollar híbridos resistentes a un amplio rango de enfermedades, como Downy mildew, *Alternaria*, *Verticilium*, *Phomopsis*, etc; con distinto contenido y calidad de aceites (linoleicos, mildoleicos y alto oleico) y con tolerancia a herbicidas del tipo de las imidazolinonas

En Argentina se han naturalizado 4 especies de *Helianthus* originarias del centro de los EEUU. Entre ellas, *H. annuus annuus* y *H. petiolaris* son dos especies anuales que han invadido la región central de Argentina donde muestran un intenso flujo génico con la especie cultivada (Cantamutto et al., 2007; Poverene et al., 2002). *H. annuus annuus* fue introducida intencionalmente como forrajera, mientras que *H. petiolaris* ingresó, probablemente, como un contaminante de semilla. Más tarde fueron importadas desde EEUU como fuente de germoplasma para conferir resistencia a patógenos.

Germinación y dormición en aquenios de girasol

La semilla es el material de partida para la producción agrícola, y con el fin de alcanzar el máximo rendimiento, es condición indispensable que tenga una buena respuesta bajo las condiciones de siembra originando así, una plántula vigorosa. La germinación y la emergencia de las plántulas deben producirse en forma rápida y uniforme, de manera de obtener un conjunto de plantas similares en tamaño y con una distribución por unidad de superficie que permita explotar óptimamente los recursos ambientales (Aguirrezábal, 2001). Por lo tanto, la sincronía de la germinación de las semillas constituye un elemento relevante a considerar. Para lograr este objetivo es fundamental contar con factores ambientales (humedad y temperatura del suelo) que favorezcan la germinación de las semillas y la emergencia de las plántulas, pero resulta prioritario que las semillas posean atributos elevados de calidad fisiológica, es decir, alto poder germinativo y vigor. Adicionalmente, la germinación de las semillas, así como la adecuada emergencia y establecimiento de las plántulas resultarán seriamente condicionados por la posibilidad de existencia de mecanismos de dormición en las semillas.

La dormición se define como la incapacidad de una semilla para completar su germinación bajo condiciones adecuadas (Bewley y Black, 1994; Bewley et al., 2013). Es un mecanismo ecológico de supervivencia que está genética y ambientalmente determinado y tiene por objeto garantizar la germinación de las semillas cuando las condiciones ambientales para su posterior desarrollo resulten adecuadas, maximizando las ventajas competitivas y asegurando el establecimiento de las plántulas.

La dormición es generalmente clasificada en dos tipos principales: dormición embrionaria y dormición por cubiertas. En la dormición embrionaria, la germinación no ocurre aún si el embrión, una vez liberado de las cubiertas seminales que lo rodean, es incubado en condiciones propicias (Bewley et al., 2013). En la dormición por cubiertas, el embrión aislado es capaz de germinar, no así la semilla intacta, siendo una o más de las envolturas embrionales el/los tejido/s que impone/n el bloqueo a la germinación. Tanto la dormición embrionaria como por cubiertas pueden existir simultánea o alternativamente y en diferente grado en algunas especies (Bewley y Black, 2004 citado en

Kermode, 2005). La dormición embrionaria implica mecanismos fisiológicos asociados a la presencia de sustancias reguladoras de la germinación. Entre los inhibidores de la germinación, el más conocido y estudiado es la hormona vegetal Ácido Abscísico (ABA; Fig. 3), un sesquiterpenoide (C₁₅) cuya biosíntesis incluye tres etapas principales, las dos primeras ocurren en los plástidos, en tanto la última etapa, que da origen a la molécula activa, se produce en el citosol (Seo y Koshiha, 2002).

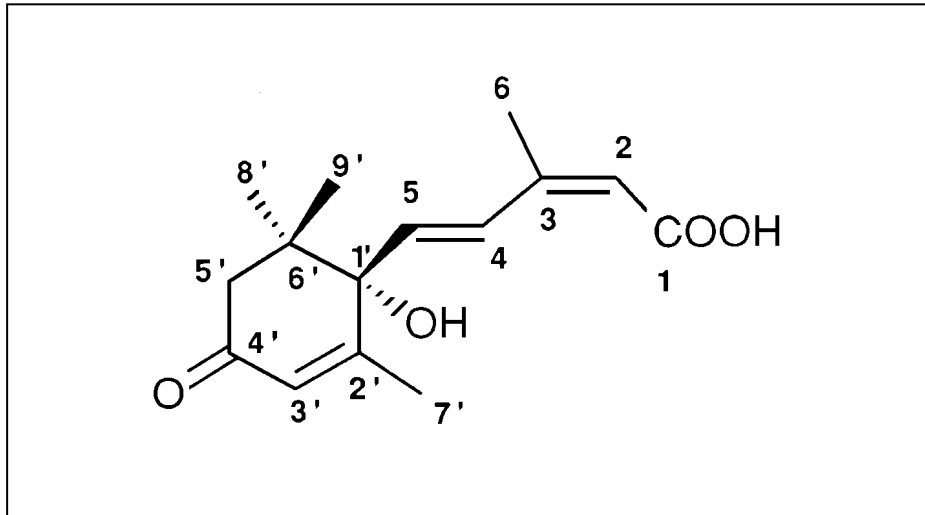


Fig. 3. Fórmula estructural de la molécula de S-(+)-ABA.

La expresión de la dormición en girasol, como en el resto de las especies vegetales, tiene un componente genético y está a su vez influenciada por el ambiente. El girasol silvestre tiene una alta dormición (Gutierrez y Poverene, 2008) mientras que, en el girasol cultivado, la ocurrencia de dormición es muy variable según los genotipos. Los altos niveles de dormición observados en los aquenios de girasol cultivado resultaron de la co-existencia de dormición embrionaria e impuesta por cubiertas (Bodrone, 2014). En cuanto a la dormición embrionaria, se ha establecido que la misma depende tanto del contenido de ABA en el embrión (Le Page-Degivry y Garello, 1992) así como de la sensibilidad de los tejidos embrionarios a la hormona (Xia et al., 2019).

Por otra parte, es ampliamente reconocida la existencia de una relación antagónica entre las concentraciones de ABA y Ácido Giberélico (GAs) en el mantenimiento de la dormición (Xia et al., 2019). De acuerdo a esto, la dormición en algunos materiales de girasol estaría relacionada con la localización citológica de las señales hormonales. Así, la ubicación subcelular

por inmunocitocalización reveló que la proteína ABI5, factor de transcripción primario de la ruta de señalamiento de ABA, y la proteína RGL2, represora de la vía de señalización de Giberelinas, se localizaron principalmente en el núcleo de semillas con dormición, en tanto que su ubicación en el citosol se evidenció en semillas sin dormición (Xia et al., 2019). Adicionalmente, Corbineau et al. (1990) determinaron que el etileno sintetizado por la propia semilla está involucrado en la regulación positiva de los procesos de germinación en semillas de girasol.

Entre los factores ambientales que influyen los niveles de dormición, el ambiente térmico en el cual se desarrolla el cultivo durante la etapa de llenado de granos tuvo una fuerte incidencia (Bodrone et al., 2017). Aqueños expuestos a bajas temperaturas durante esta etapa, presentaron dormición embrionaria, en tanto aqueños expuestos a altas temperaturas durante la etapa de llenado de granos, aunque redujeron la dormición embrionaria, registraron un mayor nivel de dormición asociada a las cubiertas seminales. (Bodrone et al., 2017).

Por otro lado, la cubierta seminal verdadera (tegumento) sería la principal responsable de la dormición, puesto que la remoción del pericarpio produjo menores incrementos en la germinación que la remoción del tegumento (Bodrone et al., 2017). Se ha determinado que la difusión de oxígeno al embrión estaría limitada por el tegumento, en tanto el pericarpio no constituiría un impedimento para la misma (Rolletschek et al., 2007), siendo en consecuencia la escasa disponibilidad de oxígeno una restricción para germinar. La duración del periodo de dormición está influenciada por el genotipo y el ambiente en el cual se desarrolla el embrión, donde la temperatura, el fotoperiodo y la radiación constituyen factores importantes que influyen los niveles de dormición de aqueños de girasol (Fenner, 1991; Bodrone, 2014).

Otro factor con incidencia sobre los niveles de dormición de aqueños de girasol es la utilización de desecantes para anticipar la cosecha (práctica muy utilizada en la producción de semillas). La aplicación de Paraquat incrementó la dormición entre un 51 a 96 % en una línea parental androestéril. Este incremento estuvo asociado con el aumento en el espesor de la pared celular

externa de la capa de células endospermáticas de las semillas (Szemruch, 2017). Adicionalmente, las condiciones ambientales durante el almacenamiento en post cosecha de los aquenios constituyen otro factor de consideración en este sentido (Romano et al., 2013; Bodrone et al., 2017; Rodríguez et al., 2018).

Superación de la dormición en aquenios de girasol.

Respecto a los mecanismos de superación de la dormición, existe poca información y los resultados son variados. Los aquenios de girasol almacenados en ambientes secos van superando su dormición mediante un proceso conocido como posmaduración, sin más requisito que el paso del tiempo. Es motivo de debate cuáles son los procesos metabólicos involucrados, ya que los niveles de humedad de los tejidos seminales, luego de la cosecha y durante el almacenamiento, son muy bajos como para soportar una actividad enzimática definida. No obstante, en tales condiciones los procesos necesarios para que la dormición se supere efectivamente ocurren (Bewley et al., 2013). Romano et al. (2013) demostraron que las mejores condiciones de producción para reducir el periodo de dormición en girasol fueron altas temperaturas del aire y baja humedad relativa. Bodrone (2014) determinó que temperaturas altas durante el almacenaje (25 °C) se asociaron a una menor dormición embrionaria debida a un menor contenido y sensibilidad al ABA y una mayor sensibilidad a GAs. Estos resultados apoyarían la teoría de que la temperatura afecta los metabolismos de ABA y GAs. Sin embargo, existen evidencias muy contradictorias respecto a los efectos de la temperatura de almacenamiento sobre la duración del periodo de dormición sugiriendo que este efecto estaría siendo afectado por la humedad de los frutos. Arata et al. (2019) determinaron que, durante el almacenamiento de aquenios con bajo contenido de humedad (4-5 %), la superación de la dormición se maximizó con temperaturas de almacenamiento superiores a 15 °C. Este proceso estuvo mayormente asociado a cambios en la dormición embrionaria. Mientras que, para humedades de almacenamiento de aquenios mayores a 8%, la superación de la dormición fue acelerada por temperaturas de almacenaje menores a 15 °C y en este caso se asoció más a dormición impuesta por cubiertas.

Por otro lado, existen varias técnicas de laboratorio para superar la dormición de los aquenios, tales como, enfriamiento a 5-10 °C, calentamiento a 30-35 °C, tratamiento con Ácido Giberélico, KNO₃, Ethephon, el cual es un precursor de la síntesis de etileno (Vujaković 2012). El uso de etileno durante el almacenamiento es una técnica bastante difundida para inducir la superación de la dormición de aquenios de girasol. Se ha demostrado que este tratamiento dispara cambios moleculares comparables a los producidos por la posmaduración en relación con el metabolismo de azúcares y la inhibición de la señalización del ABA (Xia Q, 2018). Por otro lado, si bien existen varias técnicas para promover la superación de la dormición en girasol, dado los volúmenes de semilla en etapas industriales de procesamiento, todas estas técnicas de laboratorio resultan inviables e impracticables en gran escala.

Planteo del problema.

La presencia de altos niveles de dormición en aquenios de girasol constituye una restricción e imposibilita la comercialización del material como semilla inmediatamente luego de la cosecha y el procesamiento correspondiente. En especial para aquellas situaciones donde hay poco tiempo disponible hasta la siguiente siembra. Tal como los casos de producciones para exportación a Bolivia, Brasil o la contraestación para EEUU por ejemplo, o bien para el caso del mercado nacional para partidas a ser comercializadas en el norte del territorio (Norte de Santa Fe y Chaco) que actualmente concentra aproximadamente el 40 % de la producción comercial de girasol. En estos casos, resulta por lo tanto crucial contar con mecanismos a nivel industrial que permitan superar la dormición en el menor tiempo posible y lograr la máxima calidad de semilla de forma tal de cumplir con los objetivos comerciales de venta. Asimismo, también permitiría ajustarse a los cronogramas de procesamiento y entrega de mercadería, cumpliendo la planificación global de abastecimiento (producción/procesamiento/despacho) y satisfacer de esta manera los objetivos comerciales.

En el caso de Nuseed SA, la producción de semilla híbrida de girasol se realiza en las zonas de Coronel Suarez y Coronel Pringles, provincia de Buenos Aires. La ventana temporal de producción va desde mediados de octubre hasta mediados de abril. Si se considera solamente el mercado local para la zona

Norte (Norte de Santa Fe y Chaco), resulta esencial contar con la producción de semillas de girasol aptas hacia fines de mayo para despacho, es decir, procesadas, tratadas, embolsadas y con certificados de calidad para poder ser comercializadas. Esto, para algunos híbridos, resulta en un tiempo de posmaduración insuficiente para la superación natural de la dormición. Para evitar este inconveniente, la empresa Nuseed SA ha implementado un método de procesamiento de sus semillas de girasol consistente en la aplicación de un flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) por un periodo de tiempo durante el almacenamiento de las mismas, como estrategia para acelerar la superación natural de la dormición en estos híbridos. Sin embargo, se desconoce la eficiencia real del método y las implicancias económicas de su implementación.

HIPÓTESIS

La aplicación de un flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante el almacenamiento acelera la superación de la dormición de aquenios de girasol.

OBJETIVOS

- Determinar si la técnica empleada, empíricamente, por la Empresa Nuseed SA para la superación de la dormición de aquenios de girasol, es adecuada.
- Comparar distintas alternativas para superar la dormición de aquenios de girasol a nivel industrial (planta de procesamiento de semilla).
- Determinar cuál de las alternativas evaluadas es la más eficiente con respecto a la cantidad de días necesarios para superar la dormición de aquenios de girasol.
- Comparar los costos económicos operativos de las distintas alternativas y evaluar la factibilidad de implementación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó el híbrido comercial de girasol Alto Oleico Nusol 4510 CLAO de la empresa Nuseed SA, el cual se caracteriza por presentar un alto nivel de dormición en poscosecha. En la Tabla 1, se resumen los principales datos de producción y el comportamiento del híbrido en poscosecha y frente a la técnica utilizada por la Empresa Nuseed SA para superar la dormición (aplicación de aire frío 10 °C y seco 50% HR) en tres campañas sucesivas (2016 a 2018).

Tabla 1. Nivel de dormición, viabilidad y comportamiento frente al tratamiento empleado (aplicación aire a 10 °C - 50 %HR) en la Empresa Nuseed SA para superar la dormición del híbrido Nusol 4510 CLAO durante tres años consecutivos.

Zona de producción	Fecha de siembra	Fecha de floración	Fecha de cosecha	Humedad de cosecha (%)	PG a cosecha (%)	Viabilidad (%)	PG final (%)	Fecha de superación de Dormición
Huanguelén	11/11/2015	24/1/2016	15/3/2016	8,5	4	96	93	5/4/2016
Coronel Pringles	01/11/2016	18/1/2017	15/3/2017	9	7	97	85	23/4/2017
Coronel Suarez	29/10/2017	15/1/2018	16/3/2018	8,5	8	97	97	24/4/2018

Producción de los aquenios.

El ensayo se llevó a cabo en la campaña 2017/2018. La producción de aquenios se realizó en la localidad de Coronel Pringles (37° 12' 39,16" S - 62° 06' 01,16" O) provincia de Buenos Aires (Fig. 4). La línea restauradora fue sembrada el 24/10/2017 y la línea androesteril se sembró el 01/11/2017. Ambas líneas iniciaron la floración el 18/01/2018. El 06/03/18 se aplicó Paraquat como desecante con una humedad de frutos de 23 % y la cosecha se llevó a cabo el 15/03/2018 con un contenido promedio de humedad de los aquenios de 9%.



Fig. 4. Imagen del lote de producción del híbrido Nusol 4510 CLAO en Coronel Pringles (Buenos Aires) durante la campaña 2017/2018. A) distribución de las líneas androestériles y las polinizadoras. B) Plena floración del lote productivo.

Las condiciones de Temperatura y Humedad Relativa (HR) durante la etapa reproductiva y hasta la cosecha se presentan en la Fig. 5

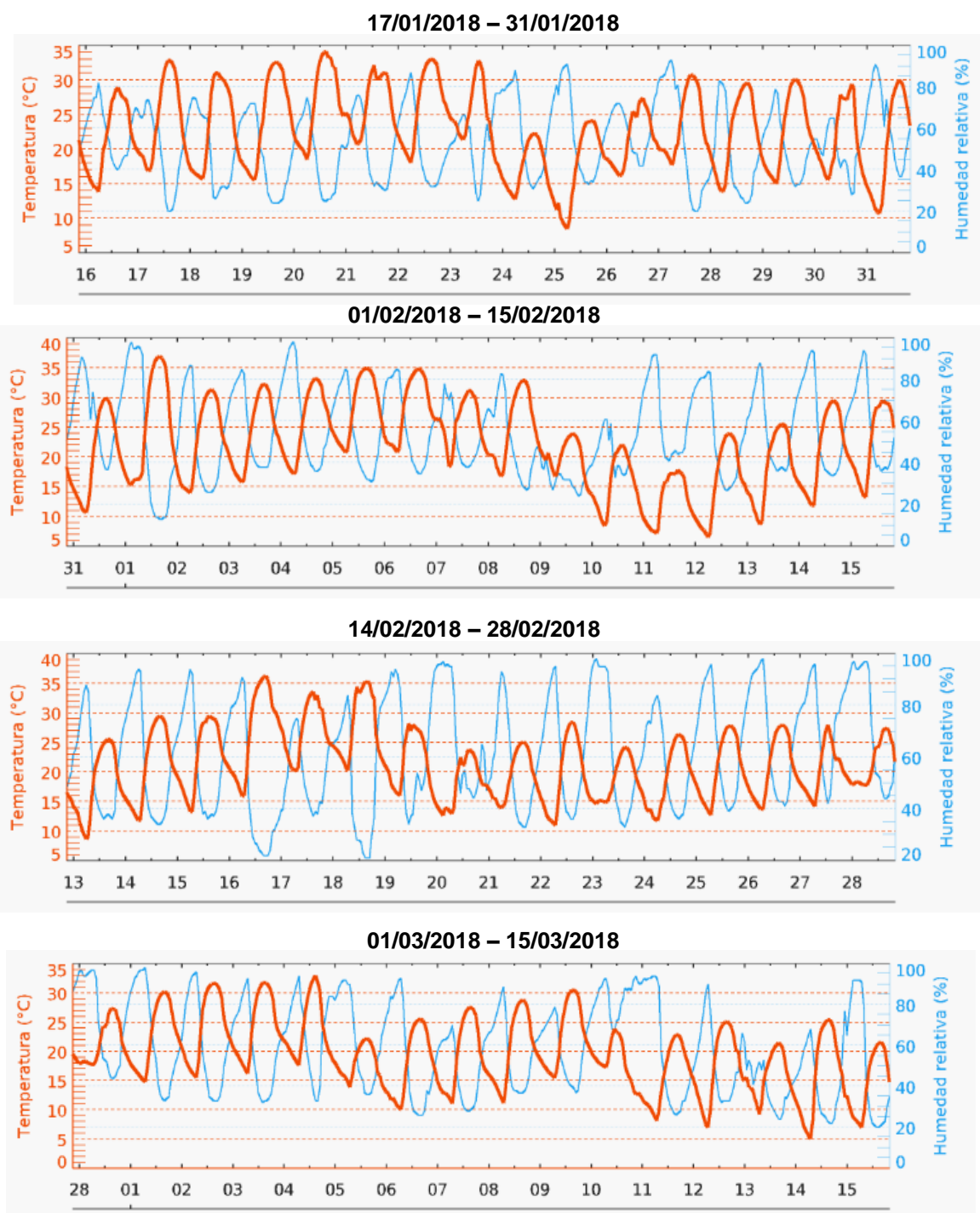


Fig. 5. Datos ambientales de Temperatura promedio (°C) y Humedad Relativa promedio (%) en Coronel Pringles (Buenos Aires) durante el período comprendido entre el 17/01/2018 y el 15/03/2018 (Fuente: meteoblue Aeroclub Coronel Pringles. 38° 01' S/ 61° 33' W. 266 msnm).

Tratamientos de los aquenios durante el almacenamiento.

Una vez cosechado, el material fue trasladado a una planta de procesamiento de semillas ubicada en la localidad de Venado Tuerto (33° 42'13" S, 62° 01'46" O), provincia de Santa Fe. En dicha planta, se prepararon tres silos con aireación y con la misma capacidad de almacenamiento. En cada silo se colocó una cantidad similar de aquenios (~30000 kg) y se iniciaron a continuación los respectivos tratamientos. Para el tratamiento testigo (T0), se colocaron los aquenios en un contenedor big bag de ~800 kg y se almacenaron en condición ambiente, en el mismo sector donde se encontraban los silos con los tres tratamientos (Fig. 6).

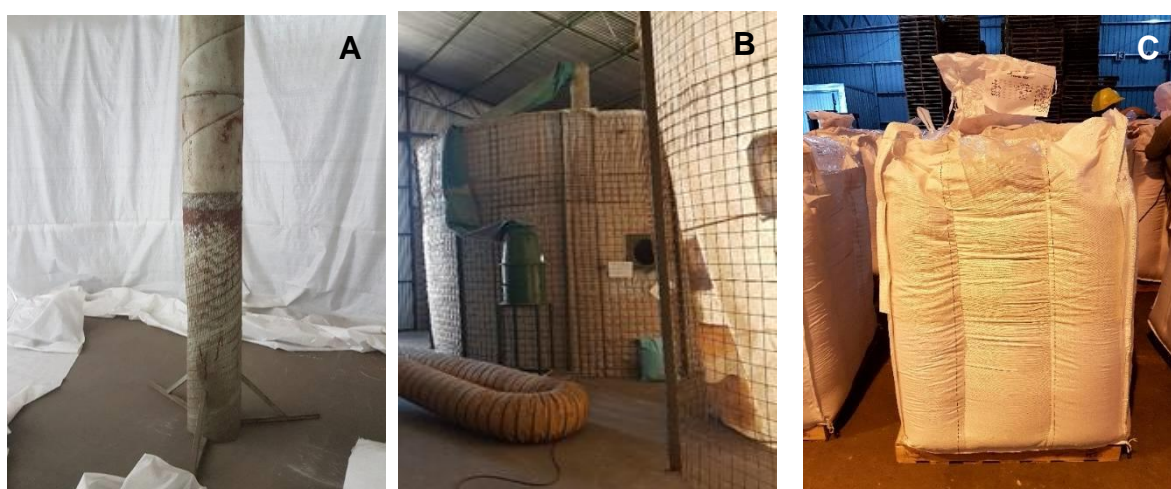


Fig. 6. A) disposición de la manga de aireación central de los silos donde se colocaron los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO. B) Silos de 30000 kg con los aquenios dispuestos para los distintos tratamientos. C) Big bag conteniendo 800 kg de aquenios de girasol, ubicado en el mismo ambiente donde se encontraban los tres silos de tratamientos.

Los tratamientos realizados fueron los siguientes:

- Tratamiento 1 (T1): Aplicación de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento.
- Tratamiento 2 (T2): Aplicación alternada de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento.
- Tratamiento 3 (T3): Aplicación de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento.
- Testigo (T0): aquenios depositados en contenedor big bag a condición ambiente, sin aireación.

El aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) se generó mediante un equipo de refrigeración para granos marca Imeg modelo #52GA-200 (Fig. 7). El principio de funcionamiento de estos equipos se basa en calentar el aire que ingresa al equipo de modo tal de bajar la humedad relativa del mismo y posteriormente lo enfría hasta alcanzar la condición final de 50% de HR y 10 °C. Este equipo de refrigeración posee un sistema de seguridad mediante el cual, su funcionamiento se interrumpe automáticamente si, durante un periodo de tiempo prolongado, la HR ambiente se mantiene cercana al 100 % (días de niebla y/o días de lluvia). Si el aire que ingresa al equipo posee elevada HR (~100 %) durante un tiempo prolongado, la temperatura a la que debe ser calentado para lograr bajar dicha HR es tan elevada que para posteriormente enfriarlo hasta alcanzar la condición final deberá trabajar a muy baja temperatura (~0 °C) produciendo un congelamiento en el equipo, el cual insuflará aire frío aunque húmedo a la masa de semillas, no cumpliendo con la condición preestablecida.



Fig. 7. A) Equipo de refrigeración Imeg modelo #52GA-200, empleado para insuflar aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) a los acuenios de girasol en los tratamientos T1 y T2. B) Detalle de la manga de insuflado de aire frío y seco en los tratamientos T1 y T2.

Para el T1, la aplicación de aire mediante el equipo de refrigeración se llevó a cabo entre el 26/03/2018 y el 24/04/2019 (30 días).

Para el T2 se empleó el mismo equipo de refrigeración utilizado en el T1, el cual mediante una manga bifurcada se pudo conectar a los dos silos en simultáneo. Adicionalmente, el sistema de aireación del silo fue acondicionado con una válvula de doble vía (Fig. 8) que permitió conectar de forma simultánea el equipo de refrigeración para el insuflado de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y de aire ambiente. Diariamente se procedió a alternar la aplicación de aire frío

y seco con aire ambiente. Bajo condiciones ambientales de alta HR (> 90 %), la aplicación de aire ambiente fue interrumpida manualmente a fin de evitar la saturación de humedad en el espacio intergranario. El ensayo comenzó el 26/03/2018 y se extendió hasta el 27/04/2018 (32 días).

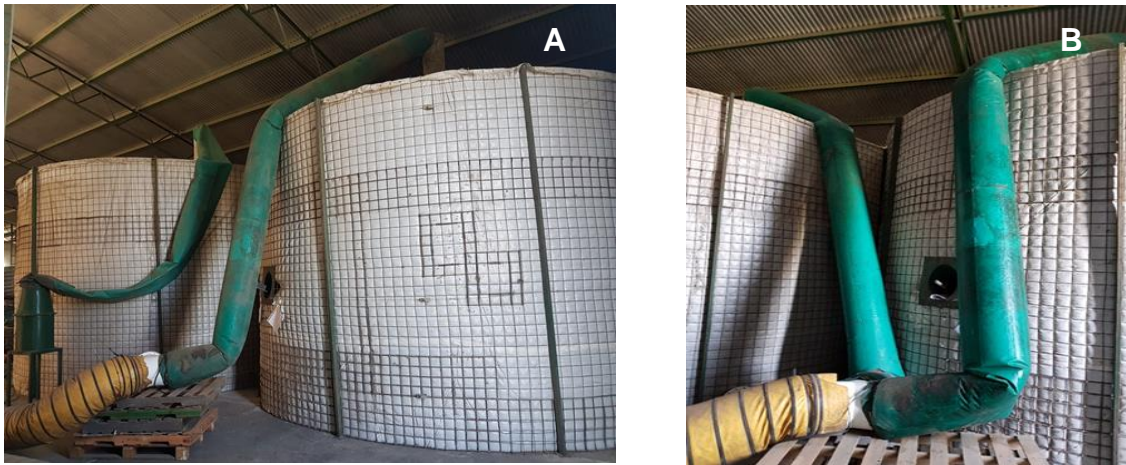


Fig. 8. A) El silo de la izquierda corresponde al T2, en tanto el de la derecha al T1, ambos comparten el suministro de aire frío y seco, el cual ingresa al interior mediante mangas de refrigeración que son vinculadas al equipo a través de una válvula de doble vía. B) Válvula de doble vía.

Para el T3 se conectó un aireador al sistema de ventilación del silo (Fig. 9) y se procedió a la aplicación de aire ambiente. La aireación comenzó a aplicarse el 26/03/2018 y se extendió hasta el 27/04/2019 (32 días). La cantidad total de aire natural aplicado fue de 89 h.



Fig. 9. Silo correspondiente al T3, el cual consistió en el insuflado del aire a condiciones ambientales durante 89 h.

Para el T0, los aquenios se colocaron en un contenedor big bag (~800 Kg) en condición ambiente en el mismo sector donde se encontraban los tres silos, sin aplicación de ningún tipo de aireación. (Fig. 6C).

En la Fig. 10 se presentan las condiciones de Temperatura y Humedad Relativa ambiente en Venado Tuerto para el período de almacenamiento durante el cual los aquenios de girasol estuvieron bajo tratamiento.

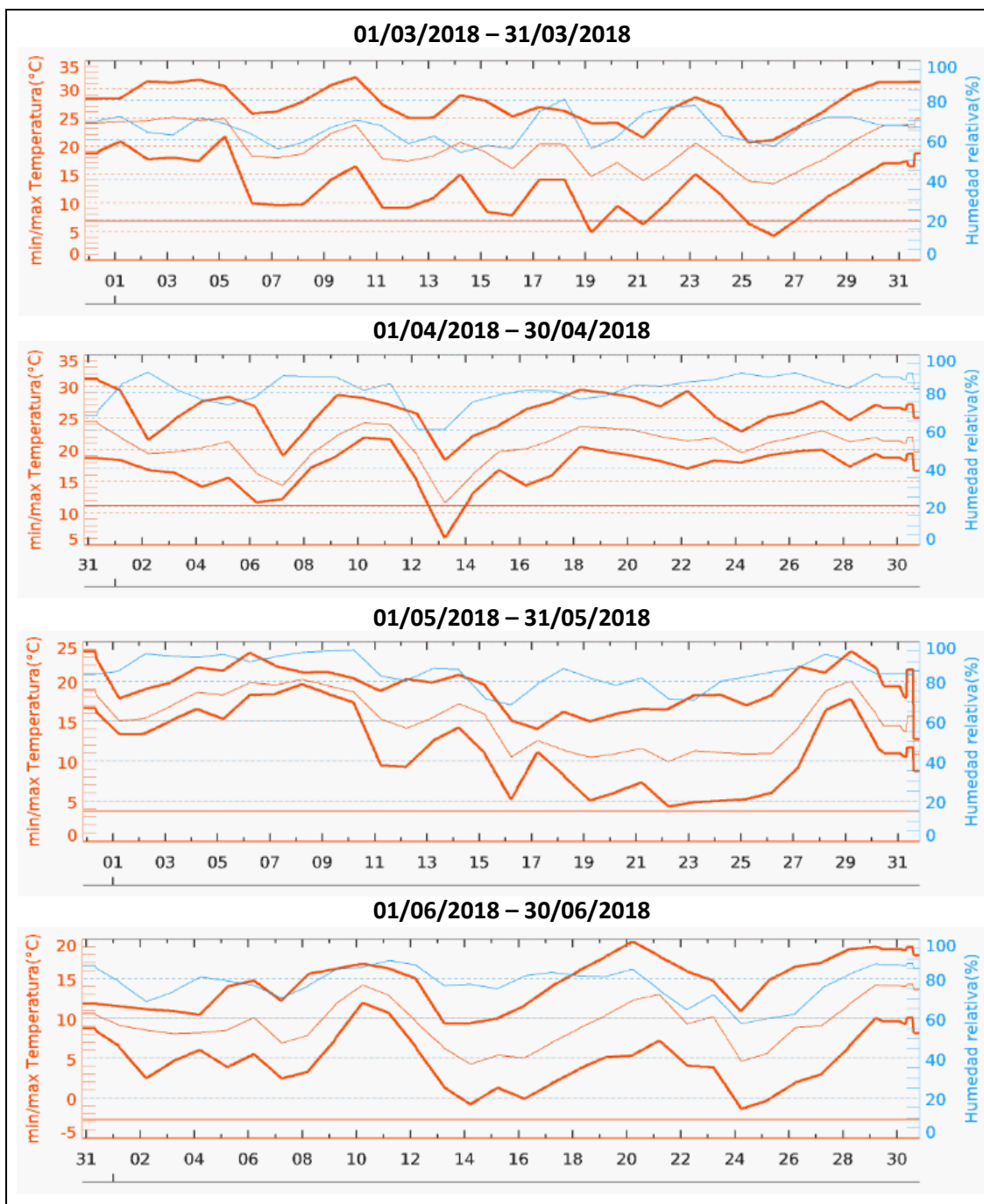


Fig. 10. Datos ambientales de Temperatura (máxima, mínima y promedio, °C) y Humedad Relativa (promedio, %) en Venado Tuerto (Santa Fe) durante el período comprendido entre el 01/03/2018 y el 30/06/2018 (Fuente: meteoblue Venado Tuerto, 33° 76´ S/ 61° 97´ W. 103 msnm).

Análisis de Poder Germinativo y Viabilidad de los achenios

En cada tratamiento se extrajeron periódicamente muestras de achenios las cuales fueron enviadas al laboratorio de análisis de semillas (Laboratorio Agrícola Venado Tuerto, acreditado por INASE) para realizar las correspondientes pruebas de germinación y viabilidad. Cada prueba fue realizada sobre cuatro repeticiones de 100 achenios cada una. Cada repetición se sembró entre papel como sustrato y fue colocada en cámara de germinación a temperatura alterna de 20/30 °C y oscuridad. A los 10 días se realizaron las lecturas de plántulas normales, plántulas anormales, semillas frescas y semillas muertas (ISTA, 2017). Para diferenciar entre semillas frescas (viables dormidas) y semillas muertas, se realizó la prueba topográfica de tetrazolio (Fig. 11) de acuerdo al protocolo provisto por las Normas ISTA (2017).



Fig. 11. Semillas de girasol Nusol 4510 CLAO sometidas a prueba topográfica de tetrazolio.

Paralelamente, durante el tiempo en que se realizaron los tratamientos, se procedió a registrar los datos de Temperatura intergranaria y HR de semillas, en cada tratamiento.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de regresión segmentada mediante el programa R versión 3.6.1. Se utilizó el Modelo de Regresión Spline para el análisis de las variables. En este modelo se tiene en cuenta la no linealidad de las variables ajustando polinomios en diferentes regiones de la variable explicativa definidas por nodos. Los nodos son puntos de corte que representan el comienzo y fin de una región. En este caso se utilizó un modelo Spline lineal, es decir, se ajustó una recta en cada región de la variable explicativa definida por los nodos.

Ecuación estimada del Modelo con un nodo en el tiempo = T

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 * Día_i + \beta_2 * T'$$

Donde $T' = 0$ si $Día_i \leq T$, y $T' = (Día_i - T)$ si $Día_i > T$

Ecuación estimada del Modelo con dos nodos, uno en el tiempo = T₁ y otro en el Tiempo = T₂

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 * Día_i + \beta_2 * T'_1 + \beta_3 * T'_2$$

Donde $T'_1 = 0$ si $Día_i \leq T_1$, y $T'_1 = (Día_i - T_1)$ si $Día_i > T_1$

$T'_2 = 0$ si $Día_i \leq T_2$, y $T'_2 = (Día_i - T_2)$ si $Día_i > T_2$

También se realizó análisis de la varianza para tiempos de almacenamiento definidos. Las diferencias entre las medias se compararon con un Test de Tuckey con un nivel de significancia de 0,01. Para ello se utilizó el paquete estadístico SAS 9.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución temporal de los tratamientos durante el almacenamiento.

En la Fig. 12 se presenta la distribución temporal de los distintos tratamientos aplicados a los aquenios de girasol durante el almacenamiento. Los tratamientos se realizaron durante 30 días para el T1 y durante 32 días para el T2 y el T3, respectivamente. La oportunidad de aplicación de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) para el T1 y el T2, y de aire ambiente para el T2 y el T3 estuvo supeditada a las condiciones ambientales imperantes durante los tratamientos, ya que frente a niveles de Humedad Relativa ambiente superiores al 90 % se interrumpieron las aplicaciones de aire frío y seco para evitar el congelamiento del equipo, de igual manera que el aire ambiente, a fin de evitar la saturación de humedad en el espacio intergranario. Los tratamientos T2 y T3 se iniciaron un día después que el T1.

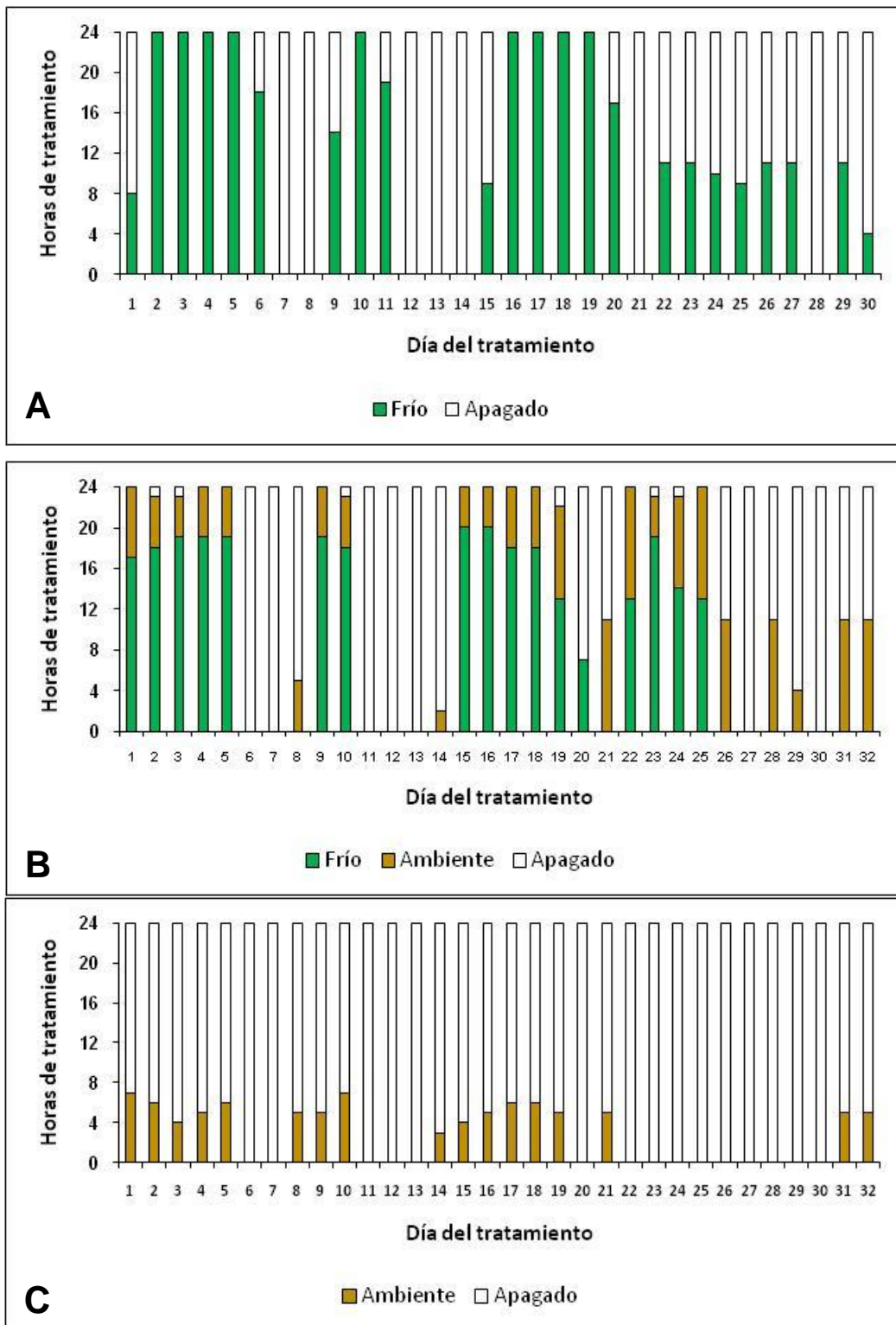


Fig. 12. Distribución temporal de los tratamientos de insuflado de aire a los que fueron sometidos los achenios de girasol Nusol 4510 CLAO. A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) alternancia de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y aire a condición ambiente, C) aire a condición ambiente.

En la Tabla 2 se presenta el tiempo durante el cual los aquenios de girasol de cada tratamiento estuvieron sometidos a insuflado de aire (frío y seco, y/o a condiciones ambientales) o sin insuflado de aire (T0) durante el almacenamiento. El suministro de aire frío y seco en el T1 representó el 53 % de los 30 días que duró el tratamiento, el 47 % restante el equipo estuvo apagado. Para el T2, el 37 % del tiempo del tratamiento (32 días) se empleó en el pasaje de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), el 22% para el pasaje de aire en condiciones ambientales y el 41 % restante el equipo estuvo apagado. El T3 empleó el 12 % del tiempo de tratamiento (32 días) para insuflar aire en condiciones ambientales. Para el testigo todo el tiempo de tratamiento transcurrió sin insuflado de aire (Tabla 2).

Tabla 2. Tiempo de exposición de los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO a los distintos tratamientos de insuflado de aire.

Tratamiento	Frío – Seco (10 °C – 50 %HR)	Ambiente	Total
	h		
T1	379	---	720
T2	284	166	768
T3	---	89	768
Testigo	---	---	768

Frío-Seco corresponde a 10 °C y 50 % HR y ambiente a las condiciones ambientales imperantes durante el tratamiento.

El tiempo de tratamiento (~30 días) estuvo definido en base a los protocolos empleados habitualmente para este híbrido por la empresa, donde la urgencia por disponer de aquenios de girasol impone un tiempo acotado de acondicionamiento para intentar la superación de la dormición.

Evolución de la Humedad Relativa de los aquenios y Temperatura intergranaria.

La Fig. 13 muestra la evolución de la Humedad Relativa (%) de los aquenios y la Temperatura intergranaria durante los primeros 25 días de almacenamiento en las distintas condiciones de tratamiento. Se puede apreciar que los valores de Humedad de los aquenios fueron semejantes en las distintas condiciones de almacenamiento indicando que los distintos tratamientos analizados no influyeron sustancialmente sobre esta variable (Fig. 13). En tanto, la Temperatura intergranaria estuvo condicionada por el tratamiento considerado.

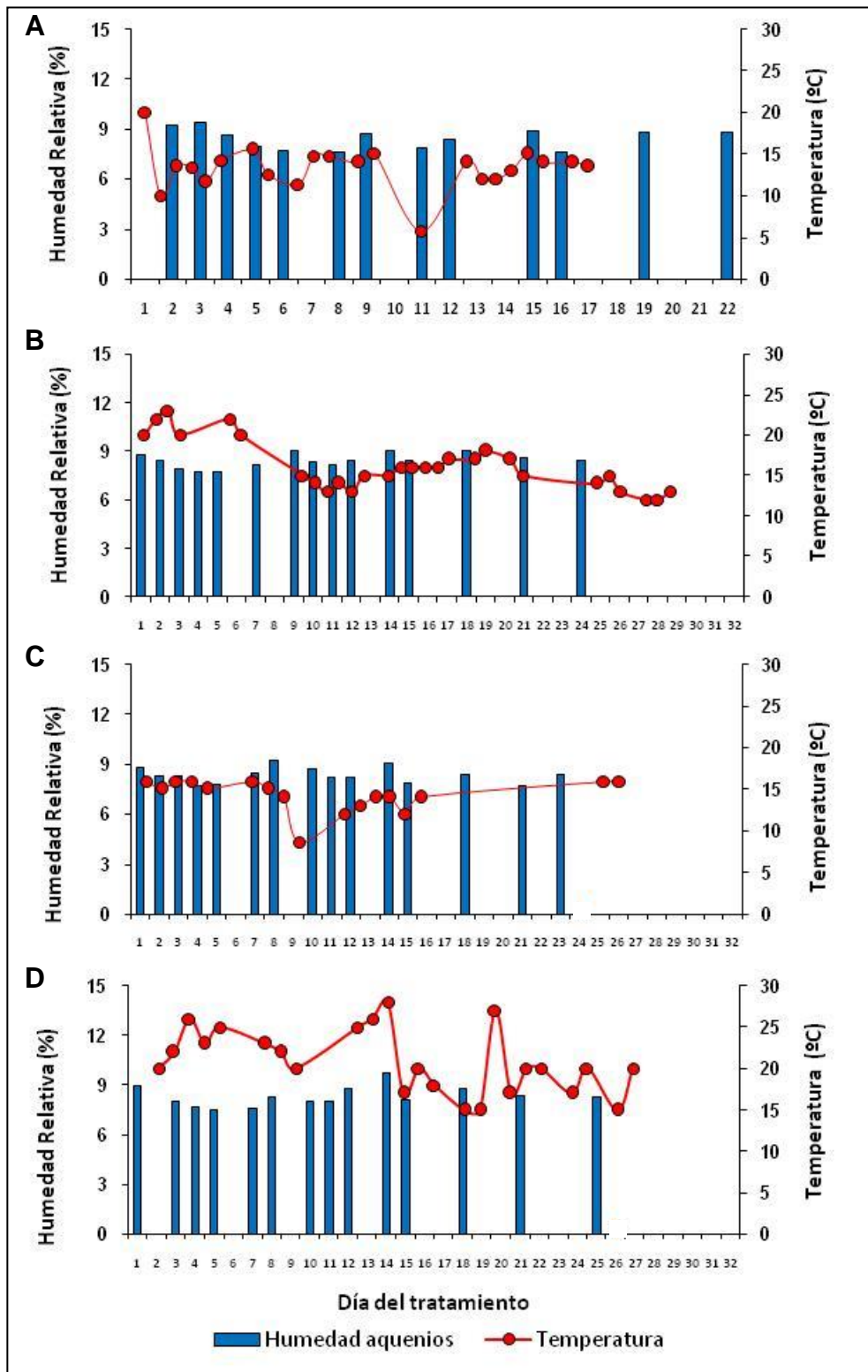


Fig. 13. Evolución de la Humedad Relativa de los aquenios y de la Temperatura intergranaria en función del tiempo de tratamiento para aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO que fueron insuflados con A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) con alternancia de aire frío y seco y aire a condición ambiente, C) con aire a condición ambiente y D) Testigo, sin tratamiento.

En la Tabla 3 se presentan los datos promedios de Humedad Relativa (HR) de los aquenios de girasol y la Temperatura intergranaria para los distintos tratamientos analizados durante los primeros 32 días de almacenamiento. La HR promedio fue similar entre todos los tratamientos, en tanto que la temperatura promedio difirió en las distintas condiciones de almacenamiento, siendo progresivamente mayor, desde el T1, T2, T3 y T0 (Tabla 3).

Tabla 3. Valores promedio de Humedad Relativa de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO y Temperatura intergranaria para el período de tiempo al que fueron expuestos los aquenios durante los distintos tratamientos.

Tratamiento	HR promedio de aquenios (%)	Temperatura intergranaria promedio (°C)
T1	8,4 ± 0,6	13,0 ± 2,4
T2	8,4 ± 0,4	15,9 ± 3,0
T3	8,3 ± 0,5	17,8 ± 3,3
Testigo	8,3 ± 0,6	20,5 ± 3,7

Los valores de HR promedio de los aquenios corresponden a la humedad de equilibrio de los mismos con el ambiente bajo condiciones de Temperatura y HR ambiente controladas (Marques Pereira y Marcal de Queiroz, 1991).

El contenido de aceite afecta significativamente la Humedad de equilibrio de las semillas. Las oleaginosas, que tienen un mayor contenido de aceite que los cereales, absorben menos agua a una misma HR. Esto es de particular importancia para el girasol, ya que existen híbridos o variedades con rangos de aceite entre 39 y 55% (Bartosik et al, 2016).

Los aquenios empleados en el presente trabajo fueron cosechados con un 9 % de HR. Tanto para el T1 como, alternadamente, para el T2, el ingreso de aire al espacio intergranario contó con control de Humedad (50 %HR) durante el tiempo que el equipo estuvo encendido. Los aquenios del resto de los tratamientos y, aún los del T1 y T2 durante el tiempo que el equipo permaneció apagado, estuvieron sometidos a las condiciones ambientales, en forma pasiva o con ingreso forzado de aire (T2 y T3). Los valores de HR ambiente, para el período comprendido por los tratamientos considerados (26/03/2018 al 24/04/2018), oscilaron entre 70 – 80 %, de acuerdo con los datos obtenidos de la estación meteorológica de Venado Tuerto (Fig. 10), resultando, por lo tanto,

en un valor de HR promedio semejante para los aquenios en las distintas condiciones de almacenamiento analizadas.

Respecto a la Temperatura, cada condición de almacenamiento reflejó el efecto de los distintos tratamientos térmicos a los que fueron sometidos los aquenios. La circulación de aire a 10 °C durante el 53 % del tiempo para el T1 generó una temperatura promedio de 13 °C; en tanto esta fue de 16 °C para el T2, donde el insuflado de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) se realizó durante el 37 % del tiempo total de tratamiento. Estos valores evidencian el efecto inercial de los tratamientos sobre la Temperatura intergranaria y representa una marcada diferencia respecto al T0, el cual presentó una temperatura promedio de ~21 °C. Aún para el T3, donde solamente se produjo el insuflado de aire a Temperatura ambiente durante el 12 % del tiempo analizado, se registró un menor valor promedio de Temperatura intergranaria (~18 °C) respecto al T0 (Tabla 3). La aireación es una técnica fundamental para conservar la calidad de las semillas durante su almacenamiento dado que permite mantener niveles bajos de Temperatura y Humedad intergranaria, limitando consecuentemente la actividad metabólica de agentes bióticos y aún la de las semillas, posibilitando el almacenamiento prolongado (Bartosik et al, 2016). Los resultados de este trabajo muestran además que la temperatura de aireación tendría un efecto directo sobre la Temperatura intergranaria promedio, justificando el insuflado con aire a 10 °C para el almacenamiento de las semillas.

Análisis de germinación de los distintos tratamientos.

La evolución del Poder Germinativo, medido como el % de germinación (%G) durante el tiempo de tratamiento para las cuatro condiciones de almacenamiento, se presentan en la Fig. 14. A cada tiempo, cada punto correspondió al valor de una de las 4 repeticiones de %G evaluadas. Para los 4 tratamientos las tendencias fueron semejantes. Desde el inicio del ensayo y hasta el día 20, aproximadamente, los aquenios mostraron un muy bajo valor de germinación, luego el %G comenzó a incrementarse indicando una superación progresiva de la dormición. No obstante, se evidenció una evolución particular para cada condición de almacenamiento. Los aquenios que fueron sometidos a un flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR; T1) describieron una

evolución sigmoidea del %G, con un fuerte incremento de la germinación entre el día 20 y 40. El máximo valor promedio de germinación obtenido correspondió al día 62 de tratamiento con 97 %G (Tabla 4, T1). El tratamiento de ventilación con condiciones alternantes de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) con aire a condición ambiente (T2) tuvo un aumento de la capacidad germinativa con una menor velocidad respecto al T1 (Fig. 14), alcanzando el máximo promedio de germinación (93 %) a los 67 días (Tabla 4, T2). Los aquenios sometidos a un flujo de aire a condición ambiente (T3) presentaron una menor tasa de incremento de %G (Fig. 14), respecto a los tratamientos anteriores, alcanzando el máximo valor promedio (92 %) a los 85 días de tratamiento (Tabla 4, T3). Finalmente, el T0 fue el tratamiento que presentó el menor incremento del %G (Fig. 14), presentando un promedio máximo de aquenios germinados (78 %) luego de 85 días de iniciado el ensayo (Tabla 4, T0).

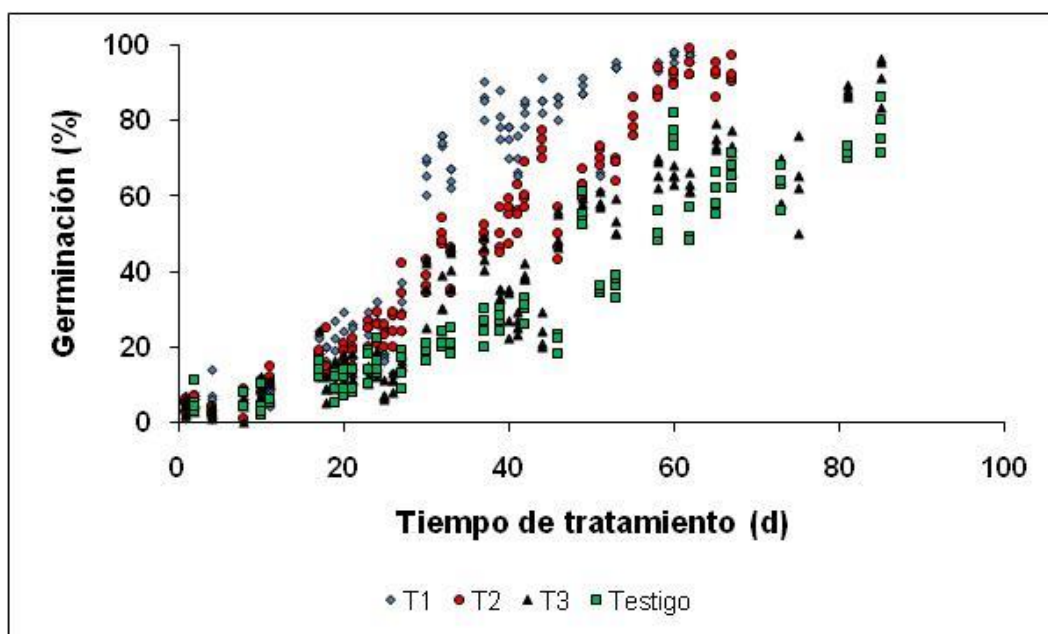


Fig. 14. Evolución del porcentaje de germinación de aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO dispuestos en cuatro condiciones de almacenamiento. (T1) flujo constante de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) durante 30 días. (T2), flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) con aire a condición ambiente durante 32 días. (T3), flujo constante de aire a condición ambiente durante 32 días. Testigo (T0), aquenios en condición ambiente.

El tiempo de almacenamiento, el número de determinaciones de %G durante el tiempo de almacenamiento y los correspondientes valores de %G inicial y final de cada tratamiento se muestran en la Tabla 4. De acuerdo a la normativa de INASE (resolución 2270/93 SAGyP), que establece un mínimo de 85 %G para la comercialización de aquenios de girasol, los análisis de PG en los diferentes tratamientos se continuaron hasta el momento en que se logró superar la dormición a estos valores de %G mínimos establecidos ($\%G \geq 85$, T1, T2 y T3) o hasta el día 85 para el T0. Los valores de %G inicial fueron similares en todos los tratamientos, en tanto el %G final fue, más alto para el T1, menor y similar para el T2 y el T3 y menor aún para el T0 (Tabla 4).

Tabla 4. Tiempo de almacenamiento, número de determinaciones del porcentaje de germinación (%G) y valores de %G inicial y final de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a distintas condiciones de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (d)	Determinaciones (n)	%G inicial	%G final
T1	62	128	3	97
T2	67	144	5	93
T3	85	152	4	92
Testigo	85	116	6	78

La escasa variabilidad en los resultados de %G para las determinaciones individuales a cada tiempo para los distintos tratamientos (Fig. 14) proporcionan un soporte sólido a la condición intrínseca del híbrido Nusol 4510 CLAO de presentar altos niveles de dormición primaria. Sin embargo, la evolución de estos valores durante el tiempo de almacenamiento muestra diferentes tendencias en cuanto a la superación de la dormición para los diferentes tratamientos, justificando el análisis a partir de los valores de %G promedio y la confirmación de viabilidad de los aquenios dormidos para cada condición.

Dormición y viabilidad de los aquenios.

Al momento de la cosecha, los aquenios del híbrido Nusol 4510 CLAO se encontraban casi totalmente dormidos, tal como se aprecia para el tiempo 0 en la Fig. 15. La evolución de la dormición en cada tratamiento se midió periódicamente mediante análisis de poder germinativo (PG). Los frutos que no

germinaron en cada determinación de PG fueron sometidos a un análisis de viabilidad mediante la prueba topográfica por tetrazolio, indicando que la ausencia de germinación se debió a la dormición de los achenios y no a la muerte del embrión. En la Fig. 15 se observa el valor de viabilidad en cada momento de tratamiento analizado para las distintas condiciones de almacenamiento utilizadas. La longitud de cada barra resulta de la suma del valor de germinación (barras verdes) más el valor de viabilidad (barras rojas) en cada determinación. En todas las condiciones de almacenamiento analizadas, los achenios de girasol mantuvieron una viabilidad superior al 97 % durante el tiempo que insumió el experimento, indicando además que los procedimientos productivos empleados generaron semillas de calidad. Adicionalmente, los valores de germinación promedio resultaron progresivamente incrementados durante el almacenamiento, en mayor medida para el T1, seguido consecutivamente por el T2, T3 y T0, respectivamente, mostrando la mayor velocidad de superación de la dormición de los achenios en este sentido.

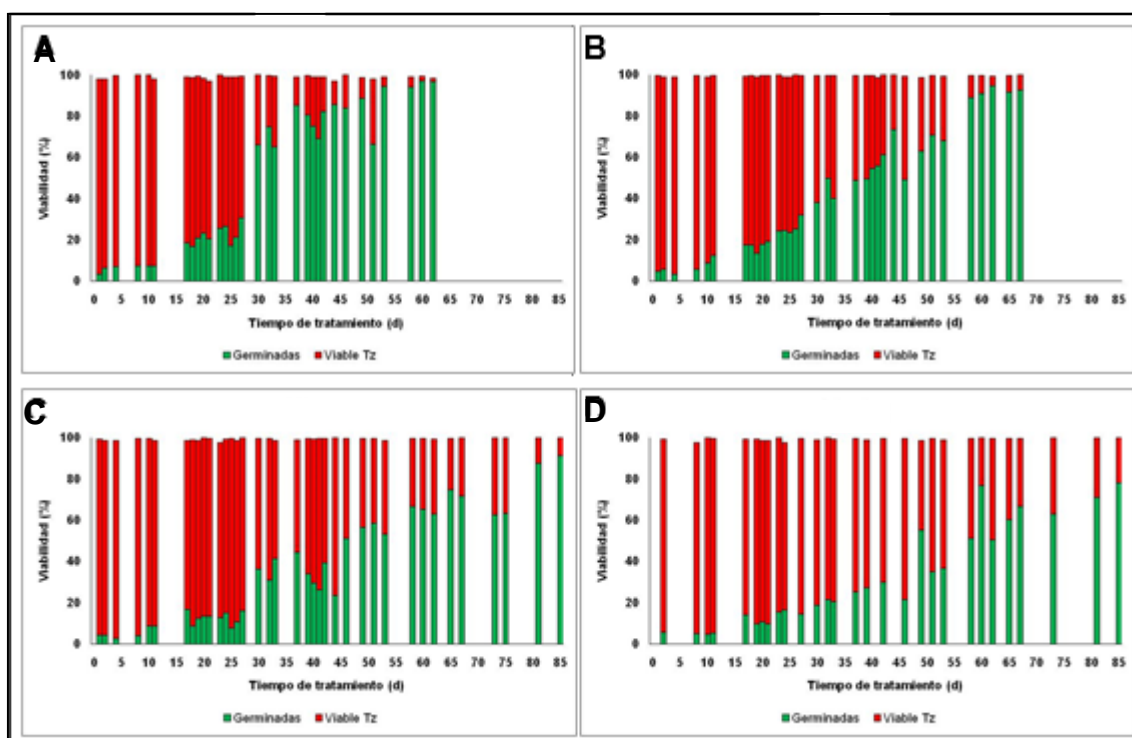


Fig. 15. Porcentaje de germinación (barras verdes) y viabilidad medida por tinción con tetrazolio (barras rojas) para distintos tiempos de tratamiento de achenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a insuflado con A) aire frío y seco (10 °C - 50 %HR), B) con alternancia de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y aire a condición ambiente, C) con aire a condición ambiente y D) Testigo, sin tratamiento.

El éxito en un esquema de producción agrícola se inicia con un rápido y uniforme establecimiento de las plántulas, donde la sincronía de germinación desempeña un papel central. Para ello es necesario disponer de semillas con una alta calidad fisiológica y fundamentalmente que las mismas carezcan de dormición. Esta segunda condición no se verificó para el híbrido de girasol Nusol 4510 CLAO utilizado en el presente trabajo. Antecedentes de campañas anteriores mostraron para este híbrido, valores de dormición y viabilidad de los achenios semejantes (Tabla 1), indicando la existencia de un determinante genético muy importante en cuanto a la presencia de dormición primaria en los achenios. También es importante considerar que en el esquema productivo empleado en estos materiales es común el uso de Paraquat como desecante. Al respecto, Szemruch (2017), informó que la aplicación de Paraquat aumentó la dormición de semillas de girasol, mediante cambios en la morfología de las células del endosperma. A su vez, la cosecha anticipada por el desecado producido por Paraquat benefició la calidad fisiológica inicial de las semillas de girasol, a través de una menor exposición a las fluctuaciones del ambiente. Un escenario similar podría estar ocurriendo para el material analizado en el presente trabajo, con la obtención de achenios de muy alta viabilidad y con una profunda dormición primaria (Fig. 15).

Análisis por tratamiento.

La Fig. 14 muestra las 540 determinaciones individuales de %G, lo cual constituye un universo de datos de difícil interpretación conjunta. La alternativa de un análisis discriminado por condición de almacenamiento y a partir de los valores de %G promedio en cada caso, permite una visualización más clara de los efectos que cada tratamiento tuvo sobre la superación de la dormición en los achenios de girasol.

El ajuste utilizado en cada tratamiento se generó en base al modelo de Regresión Spline, el cual tiene en cuenta la no linealidad de la relación entre las variables ajustando polinomios en diferentes regiones de la variable explicativa definida por nodos. Los nodos son puntos de corte que representan el comienzo (y fin) de una región. En este caso se utilizó un modelo Spline lineal, es decir, se ajustó una recta en cada región de la variable explicativa definida por los nodos.

Para los aquenios sometidos a un flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento (T1), el ajuste muestra dos puntos de inflexión en la evolución del %G. Estos puntos correspondieron al día 25 y 32 de almacenamiento y definieron tres períodos con diferente comportamiento en la tasa de germinación.

La ecuación generada por el modelo fue:

$$\%G_i = 1.7642 + 0.9445 \cdot \text{Día}_i + 6.0866 \cdot T_{25} - 6.3434 \cdot T_{32}$$

Donde:

$$T_{25} = 0 \text{ si } \text{Día}_i \leq 25, \text{ y } T_{25} = (\text{Día}_i - 25) \text{ si } \text{Día}_i > 25$$

$$T_{32} = 0 \text{ si } \text{Día}_i \leq 32, \text{ y } T_{32} = (\text{Día}_i - 32) \text{ si } \text{Día}_i > 32$$

Entre el día 0 y 25 del almacenamiento, la ecuación fue:

$$\%G_i = 1.7642 + 0.9445 \cdot \text{Día}_i$$

Entre el día 26 y 32 del almacenamiento, la ecuación fue:

$$\%G_i = -150.4008 + 7.0311 \cdot \text{Día}_i$$

Desde el día 32 hasta el día 60 la ecuación fue:

$$\%G_i = 52.588 + 0.6877 \cdot \text{Día}_i$$

En cada tramo, la evolución de la capacidad germinativa ajustó a una recta de regresión cuya pendiente correspondió a la tasa de aumento del %G por día.

El primer tramo, entre el día 0 y el día 25 presentó una tasa de incremento de %G de $0,95 \cdot \text{d}^{-1}$. El segundo tramo, entre el día 26 y 32, tuvo una tasa de incremento de $7,03 \text{ \%G} \cdot \text{d}^{-1}$. Finalmente, el último tramo (día 33 al 60) mostró una tasa de $0,69 \text{ \%G} \cdot \text{d}^{-1}$ (Fig. 16A).

Para los demás tratamientos la evolución del %G promedio de los aquenios de girasol ajustó a un modelo de regresión lineal. Bajo flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento (T2), la dinámica de germinación ajustó al modelo con un R^2 de 0,956 (Fig. 16B). En el caso del T3 (aquenios sometidos a flujo de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento), la evolución del %G promedio tuvo un R^2 de 0,906 (Fig. 16C). Para el T0 el ajuste tuvo un $R^2 = 0,897$ (Fig. 16D).

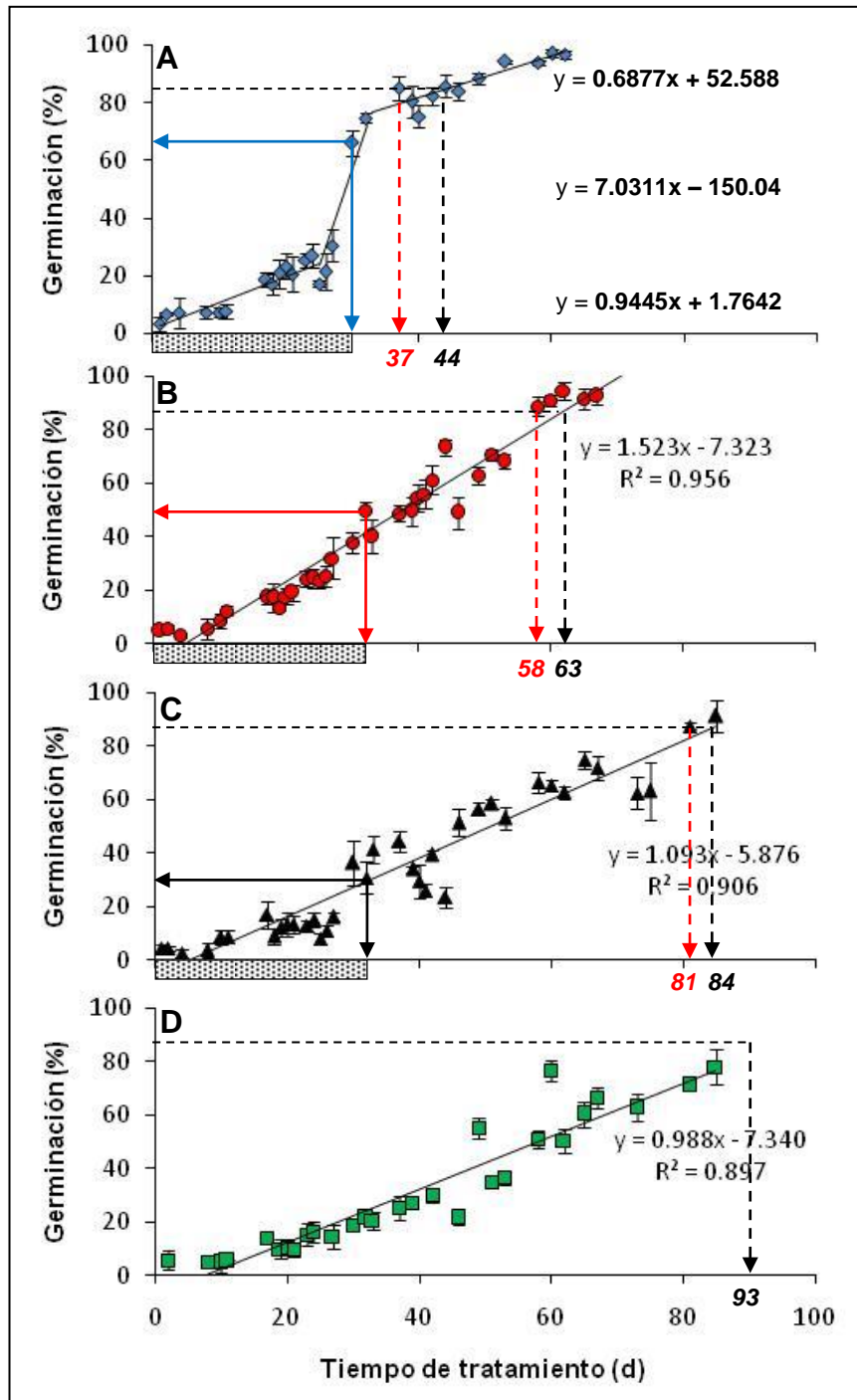


Fig. 16. Ajuste de la evolución del porcentaje de germinación de aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO según el modelo de Regresión Spline en función del tiempo de almacenamiento para cuatro condiciones de tratamiento. (A) flujo constante de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento. (B), flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50% HR) con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento. (C), flujo constante de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento y (D) Testigo, aquenios en condición ambiente. El rectángulo punteado debajo del eje de las abscisas en A, B y C corresponde al período del almacenamiento durante el cual se realizaron los respectivos tratamientos. Las líneas de punto negro horizontales corresponden al 85 %G y las verticales a su proyección sobre el eje de las abscisas de acuerdo al valor predicho según la ecuación de ajuste correspondiente. Las líneas de punto rojas corresponden al momento medido en el cual se alcanzó, efectivamente el 85%G.

Dinámica de la superación de la dormición de los aquenios.

En la Tabla 5 se presentan los días de almacenamiento medidos y calculados para alcanzar el 85 %G en cada tratamiento. Para el T1, T2 y T3 el 85 %G se alcanzó efectivamente durante el tiempo que duró el experimento (Fig. 16, línea de puntos roja; Tabla 5), en tanto el T0 no logró el 85 %G durante este mismo tiempo (Tabla 5). El tiempo de almacenamiento calculado en el cual se alcanzaría el 85 %G se obtuvo a partir de las ecuaciones de ajuste de cada tratamiento (Fig. 16, línea de puntos negra; Tabla 5).

Tabla 5. Días de tratamiento efectivamente medidos y calculados utilizando las ecuaciones de ajuste correspondientes, para alcanzar el 85 % de germinación de aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a distintas condiciones de tratamiento.

Tratamiento	85 %G	
	Medido	Calculado
T1	37	44
T2	58	63
T3	81	84
T0	---	93

En todos los casos, el tiempo calculado en el cual se lograría el 85 %G fue superior al correspondiente valor medido (Tabla 5). No obstante, la proximidad entre ambos valores, aún para T0, de haber extendido el tiempo experimental, soporta los resultados en cuanto a la efectividad de cada uno de los tratamientos para superar la dormición en los aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO.

Dado que el T1 fue el tratamiento que superó más rápidamente la dormición alcanzando la base de comercialización (85 %G) en el día 37 (Tabla 5); se procedió a realizar un análisis estadístico que permitiera confirmar si existen diferencias significativas entre los tratamientos ensayados para el %G alcanzado los 37 días.

El análisis de la varianza para los valores de %G alcanzados en el momento en que se alcanza el 85 %G en el T1 (día 37 de almacenamiento) determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,001$). El

promedio de achenios germinados del T1 difiere significativamente de los demás tratamientos, obteniendo la media más alta (85,3 %G) entre los 4 tratamientos. También existen diferencias significativas entre el Testigo y los demás tratamientos. El Testigo obtuvo el menor promedio de achenios germinados (25,4 %G). El T2 y el T3 no presentaron diferencias significativas entre sí, y sus valores de %G fueron 48,8 y 44,5; respectivamente (Fig. 17).

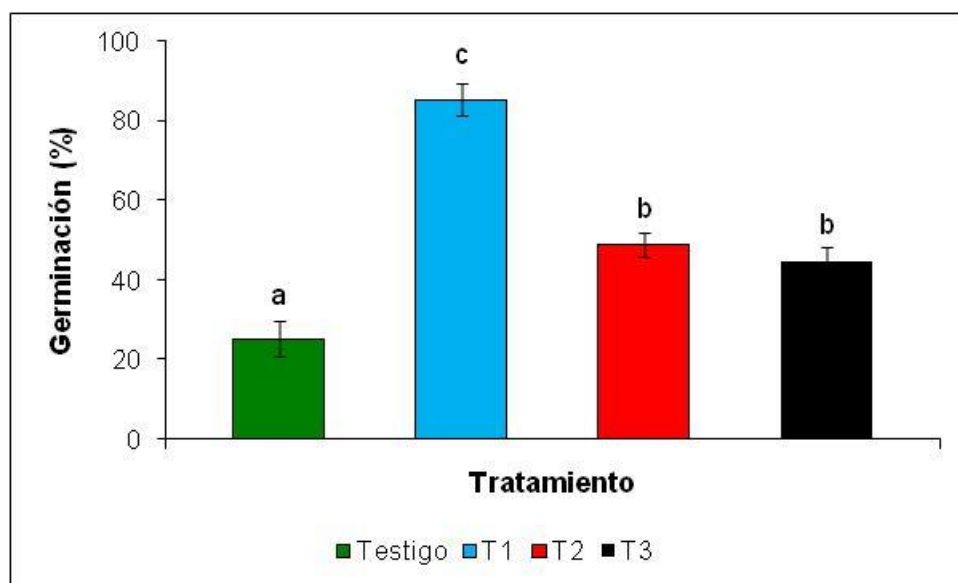


Fig.17. Porcentaje de germinación para el día 37 de almacenamiento, de achenios de girasol Nusol 4510 CLAO sometidos a los siguientes tratamientos: (T0) achenios en condición ambiente, (T1) achenios sometidos a flujo de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante los primeros 30 días de almacenamiento, (T2) achenios sometidos flujo alterno de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y con aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento y (T3) achenios sometidos a flujo de aire a condición ambiente durante los primeros 32 días de almacenamiento. Letras distintas indican diferencias significativas, Tukey ($p < 0,01$).

Este análisis confirma que el T1 fue significativamente más veloz en superar la dormición y que, para el momento en que este tratamiento alcanzó el 85 %G, los valores de %G para el T2 y el T3 fueron similares entre sí y aproximadamente la mitad respecto al T1. Por su parte, el Testigo reportó el valor más bajo de germinación. Los datos previos ubican a T1 como el tratamiento más efectivo, en términos de velocidad, para superar la dormición de los achenios de girasol Nusol 4510 CLAO.

Efectos de los tratamientos sobre la superación de la dormición de los achenios.

El insuflado de aire frío y seco (T1) generó un cambio sobre la tasa de superación de la dormición. En total se insufló aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante 379 h distribuidas en los primeros 30 días de almacenamiento (rectángulo punteado en eje de las abscisas Fig.16A). Hasta el día 25 la tasa de superación de la dormición fue de 0,95 %G.d⁻¹, habiéndose realizado el 90 % del tratamiento (344 h de 379 h totales). A partir del día 26 de almacenamiento se produjo un cambio drástico en la tasa de superación de la dormición, la cual aumentó a 7 %G.d⁻¹, y se mantuvo en ese valor hasta el día 32, dos días después de haber finalizado el tratamiento de insuflado de aire frío y seco. Finalmente, con una tasa menor (0,7 %G.d⁻¹) se logró la superación de la dormición (85 %G) el día 37 (Fig. 16A). De acuerdo a estos resultados, el valor calculado para el 85 %G (44 días) se obtuvo a partir de la ecuación que contempla este último tramo del modelo ($T_i > 32$), donde ya el tratamiento ha finalizado. Este mismo valor calculado a partir de la ecuación correspondiente al tramo previo (donde el tratamiento está siendo mayormente aplicado) resulta en 33 días, indicando que, la prolongación del tratamiento por unos días más podría haber resultado más efectivo permitiendo mantener la alta tasa de superación de la dormición en los achenios (7 %G.d⁻¹), reduciendo aún más los tiempos de almacenamiento de achenios y justificando aún más el tratamiento.

El resto de los tratamientos presentaron una tendencia lineal de salida de la dormición con distinta tasa de aumento de %G. El T2 tuvo una tasa de 1,5 %G.d⁻¹ a lo largo de todo el tratamiento (Fig. 16B), lo que indicaría una salida gradual de la dormición sin cambios sustanciales en el mecanismo de superación. En este tratamiento se insufló aire a 10 °C y 50 %HR por 284 h distribuidas durante los primeros 32 días de almacenamiento (Fig. 16B), a los que se les agregaron 166 h de aire en condiciones ambiente. Si se compara este tratamiento con el Testigo (T0), que tuvo una tasa de superación de dormición de 0,9 %G.d⁻¹ durante todo el almacenamiento, se evidencia un claro efecto del tratamiento sobre la superación de la dormición. No obstante, es también evidente que este tratamiento no fue lo suficientemente enérgico para inducir un cambio sustancial en la tendencia de superación de dormición, como

el T1. O bien el tiempo de insuflado de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) durante el tratamiento no fue suficiente, o el aire a condición ambiente atenuó el efecto del aire frío y seco, o ambas situaciones simultáneas.

Para el T3, se insuflaron solamente 89 h de aire en condiciones ambiente durante los primeros 32 días del almacenamiento (Fig. 16C), las que indujeron la superación de la dormición a razón de 1,1 %G.d⁻¹, esto fue levemente más rápido que para el Testigo, no obstante muy inferior a lo que se logró en el T1.

Estos resultados permitirían inferir que el insuflado de aire a condición ambiente generaría *per se* una reducción en el tiempo de superación de la dormición en los aquenios, tal como demuestran las tasas de %G cuando sólo este tratamiento estuvo presente (T3; 1,1 %G.d⁻¹) y cuando el mismo se alternó con aire frío y seco (T2; 1,5 %G.d⁻¹), las cuales fueron mayores que en ausencia del mismo (T0; 0,98 %G.d⁻¹). A su vez, el tratamiento de insuflado con aire frío y seco mostró ser el más efectivo en cuanto a la superación de la dormición de los aquenios, siendo posible que la cantidad de horas de tratamiento determinen la efectividad del mismo, como demuestra la tasa de %G para el T2, con un total de 284 h aplicadas, la cual si bien resultó mayor que las correspondientes a T3 y T0 (ambos sin aplicación de aire frío y seco) fue menor respecto al T1 el cual recibió un total de 379 h de tratamiento. Más aún para el T1, tal como se indicó previamente a partir de los valores calculados al 85 %G, un aumento en el número de horas de aire frío y seco es probable que hubiera permitido la superación de la dormición de los aquenios incluso en menor tiempo.

Aspectos fisiológicos de la superación de la dormición.

La posmaduración es el proceso por el cual las semillas maduras y secas con dormición adquieren la capacidad de germinar después de un período prolongado de almacenamiento, es decir se vuelven no durmientes. La posmaduración produce principalmente una ampliación del rango de condiciones ambientales (temperatura, luz, disponibilidad de oxígeno, etc.) en las cuales es posible la germinación y un aumento en su velocidad (Bazin et al., 2011). La posmaduración es un mecanismo común en muchas especies, las cuales requieren períodos variables de tiempo de almacenamiento (desde unas pocas semanas hasta varios meses) para superar la dormición.

Las semillas se consideran "secas" cuando se encuentran en el nivel de hidratación II, correspondiente a un contenido de agua entre 4 y 20% (base peso seco). Allí, el agua se encuentra desde fuertemente ligada a las estructuras seminales cuando el porcentaje es próximo al 4% hasta débilmente ligada a medida que el nivel hídrico se aproxima al extremo superior (20 %), no existiendo agua libre disponible para catálisis enzimática u otros eventos bioquímicos, sobre todo en el extremo inferior de este nivel de hidratación (Bewley et al., 2013). No obstante, se ha demostrado que algunos procesos bioquímicos ocurren en estas condiciones y han sido asociados con la liberación de la dormición de semillas. Oracz et al. (2007) demostraron que la posmaduración de semillas de girasol está asociada con la acumulación de especies reactivas de oxígeno y carbonilación de proteínas. Además, se determinó que cambios en la expresión génica ocurren durante la posmaduración de semillas de varias especies, sugiriendo que la transcripción está activa también en estado seco (Bazin et al., 2011).

Adicionalmente, las semillas de varias especies muestran una disminución en el contenido de ABA durante la posmaduración. Por ejemplo, semillas de *Arabidopsis thaliana* ecotipo Cvi (Cape Verde islands), con una profunda dormición, perdieron tal condición luego de 6 meses de posmaduración, registrándose durante ese lapso una disminución del contenido de ABA de aproximadamente el 10%, sugiriendo esto que la sensibilidad de la semilla al ABA juega también un papel importante en la superación de la dormición (Bewley et al., 2013).

En cuanto a las condiciones ambientales durante la posmaduración, estudios en diferentes especies muestran que temperaturas altas durante el almacenamiento generalmente aceleran la superación de la dormición (Baskin and Baskin, 1976). Para el caso específico de girasol existe información controversial al respecto. En este sentido, resultados obtenidos en un reciente trabajo mostraron que el almacenamiento a 25 °C, en comparación con el almacenamiento a 5 °C, promovió la superación de la dormición de aquenios de girasol (Bodrone, 2014). Posteriormente, Rodríguez et al. (2018) señalaron a la sensibilidad del embrión al ABA como el factor decisivo en la superación de la dormición de los aquenios (tanto embrionaria como impuesta por las cubiertas seminales y/o el pericarpio), e indicaron que la misma sería afectada por mecanismos que operan durante la posmaduración. Sin embargo, cuando se evaluó el efecto del almacenamiento a 10°C sobre el nivel de dormición de los aquenios, no hubo diferencias respecto de las temperaturas de almacenamiento más altas. Adicionalmente, los frutos que fueron expuestos a una alta temperatura durante el llenado de granos superaron más lentamente la dormición independientemente de la temperatura de almacenamiento (Bodrone et al., 2017). Por lo tanto, existe la posibilidad de que se presenten distintos óptimos térmicos para la superación de la dormición, y quizás distintos mecanismos subyacentes, lo que además podría explicar, junto con el efecto del ambiente materno durante el desarrollo, la falta de consistencia en la respuesta observada en los distintos reportes de la bibliografía (Bodrone, 2014).

Aunque el efecto de la temperatura de almacenamiento en la superación de la dormición de los aquenios de girasol ha sido explorado por varios grupos, la variabilidad de los datos informados dificulta el establecimiento de un patrón de respuesta claro, probablemente debido a las muchas fuentes de variación que pueden afectar la expresión de la dormición como el contenido de humedad de los aquenios, la diversidad genética, las estructuras del fruto involucradas en la dormición, y la temperatura de incubación durante la germinación (Rodríguez et al., 2018). Bazin et al. (2011) combinaron diferentes contenidos de humedad de aquenios de girasol y temperaturas de almacenamiento y observaron una fuerte interacción entre ambas variables en la superación de la dormición. En aquenios almacenados con un contenido de humedad mayor a 10 % la superación de la dormición fue promovida por una mayor temperatura de

almacenamiento, en tanto lo mismo ocurrió para temperaturas más bajas cuando se almacenaron con un contenido de humedad menor a 5 %. Estos autores sugirieron un valor umbral de 10 % de humedad de los aquenios para respuestas a la temperatura, y postularon que distintos mecanismos regulan los niveles de dormición según el contenido de humedad de la semilla, sugiriendo que un mecanismo no enzimático actuaría como regulador a bajos contenidos de humedad, mientras que un mecanismo enzimático lo haría a mayores contenidos de humedad.

En un trabajo con aquenios y embriones (frutos sin pericarpio ni tegumento) almacenados en distintas condiciones de humedad y temperatura, Arata et al. (2019) mostraron que, para los aquenios almacenados con 4% de humedad, las altas temperaturas (20-25 °C) de almacenamiento promovieron la superación de la dormición de frutos y embriones, mientras que con 8% de humedad este patrón de respuesta a la temperatura se invirtió. En frutos con 6% de humedad, la superación de la dormición fue promovida por temperaturas de almacenamiento entre 5 y 20 °C, siendo menos efectivo el almacenamiento a 25 °C. Finalmente, en frutos con 10 % de humedad la dormición se mantuvo en casi todo el rango térmico de almacenamiento.

En el caso particular del presente trabajo, la humedad de los aquenios estuvo próxima al 8 % y la temperatura promedio del T1 fue de 13 °C, condiciones que lo ubican, de acuerdo con los antecedentes citados previamente, como el tratamiento más adecuado de los utilizados para inducir la superación de la dormición. Para los demás tratamientos, la humedad de los aquenios fue similar (8 %) en las distintas condiciones ensayadas. Sin embargo, la temperatura promedio del espacio intergranario fue variable, con valores crecientes (~16, 18 y 21 °C para el T2, T3 y T0, respectivamente) respecto a la temperatura indicada como más adecuada para superar la dormición (10 °C) para este nivel de humedad de aquenios.

Respecto a los aspectos fisiológicos que operarían en la superación de la dormición, los antecedentes bibliográficos establecen que se trata de un mecanismo complejo y difícil de ser dilucidado, donde la interacción entre las distintas estructuras seminales que constituyen el aquenio juega un papel fundamental. Más aún, el componente genético asociado a la naturaleza híbrida particular de los materiales bajo estudio podría en gran medida

contribuir y/o ser responsable de la singularidad de resultados. No obstante, parece haber coincidencia en cuanto a que durante la posmaduración operaría en los aqenios un proceso de reducción de la sensibilidad del embrión al ABA (Bewley, 2013; Rodríguez, 2018; Arata et al., 2019). Si este fuera el efecto condicionante de la superación de la dormición, su determinación no estuvo comprendida dentro del alcance del presente Trabajo Final.

Consumo de energía eléctrica de los tratamientos.

En la Tabla 6 se presentan los datos de consumo de energía (kW) para cada tratamiento. En el caso del T1, se utilizó el equipo de frío durante 379 h. Este equipo consta de una unidad condensadora que genera las bajas temperaturas, las cuales son insufladas al interior del silo por medio de una corriente de aire generada por una turbina que toma aire del ambiente y lo introduce al interior del silo a un régimen estable de temperatura y humedad, en este caso 10 °C y 50 %HR. El consumo de energía del equipo fue de 22 kW/h, lo cual se tradujo en 8333 kW consumidos durante los 30 días de tratamiento (Tabla 6). Durante el T2 se emplearon 284 h de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) y 166 h de aire insuflado a condición ambiente. El funcionamiento del equipo de insuflado de aire ambiente tiene un consumo de 1,5 kW/h, lo que representó 249 kw adicionales al equipo de frío, haciendo un total de 6497 kW. El T3 consumió 133,5 kW, resultado de utilizar durante 89 h el equipo para insuflar aire a condición ambiente (Tabla 6). Finalmente, el Testigo no presentó ningún consumo energético (Tabla 6).

Tabla 6. Consumo de energía de los distintos tratamientos a los que fueron sometidos los aqenios de girasol Nusol 4510 CLAO durante su almacenamiento.

Tratamiento	Frío	Ambiente	Total
		kW	
T1	8338	---	8338
T2	6248	249	6497
T3	---	133,5	133,5
Testigo	---	---	---

Análisis de costos

Al momento del experimento (marzo – abril de 2018) el costo de la energía eléctrica para la empresa Nuseed SA, fue de \$ 3,3/kW. El valor de conversión de la moneda argentina fue de U\$S 1 = \$ 20, lo que representó un costo de energía eléctrica en moneda norteamericana de U\$S 0,165/kW. En la tabla 7 se presentan los costos de energía generados por los distintos tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol.

Tabla 7. Costo de energía de los distintos tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO durante su almacenamiento.

Tratamiento	Frío	Ambiente	Apagado	Total
			\$	
T1	27499 (1375)	---	---	27499 (1375)
T2	20618 (1031)	822 (41)	---	21440 (1072)
T3	---	441 (22)	---	441 (22)
Testigo	---	---	---	---

Entre paréntesis los correspondientes valores en U\$S

Para el desarrollo del ensayo, el equipo de enfriamiento fue utilizado solamente para refrigerar 30 Tn de aquenios de girasol, la cual correspondió a la capacidad de almacenamiento de los silos empleados en los distintos tratamientos. Sin embargo, este equipo de enfriamiento tiene capacidad para refrigerar hasta 200 Tn de semilla totales, motivo por el cual, en situaciones reales de acondicionamiento se lo utiliza para aplicar aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) a esa cantidad de aquenios. En la Tabla 8, puede apreciarse el costo por bolsa final comercializable de cada uno de los tratamientos realizados en el experimento aquí informado, respecto al cálculo teórico correspondiente a la utilización del equipo en su capacidad máxima de refrigeración (200 Tn de semilla). Para el cálculo del costo teórico por bolsa, se consideró la cantidad de horas reales de aire frío y seco (T1 y T2) y de aire en condiciones ambiente (T2 y T3) aplicados en cada tratamiento (Tabla 2), para un volumen de aquenios almacenados de 200 Tn. Se consideró una merma promedio de clasificación de 20% y un peso promedio por bolsa de 12 kg (promedios generales para el híbrido Nusol 4510 CLAO).

Tabla 8. Costo de energía real y teórico (calculados utilizando el equipo a máxima capacidad) expresado en dólares estadounidenses (U\$\$) por bolsa para cada uno de los tratamientos a los que fueron sometidos los aquenios de girasol Nusol 4510 CLAO.

Tratamiento	Costo real del experimento	Costo teórico a máxima capacidad del equipo
	U\$\$/bolsa	
T1	0,69	0,1
T2	0,53	0,08
T3	0,01	0,002
Testigo	-	-

Considerando que el precio promedio por bolsa de girasol en el mercado es de aproximadamente U\$\$ 100, el costo de utilizar cualquiera de las técnicas es altamente justificable en el valor final de la bolsa, incluso para la técnica de aplicación de aire frío y seco (10°C - 50% HR). Otro aspecto a considerar ante el empleo de las técnicas ensayadas en este experimento es, desde el punto de vista comercial, la fecha de disponibilidad de las bolsas en condiciones óptimas de comercialización. En este sentido, el T1 logró acortar efectivamente en 56 días el tiempo necesario para superar la dormición de los aquenios respecto al valor calculado (93 días) para un proceso de superación natural de la dormición, alcanzando el 85 %G en 37 días (Tabla 5).

Considerando que el 26/03 fue el día en el cual se dio inicio a los tratamientos, los aquenios de girasol correspondientes al T1 se encontraban en condiciones óptimas para ingresar a clasificación y embolse el 02/05. El material correspondiente al T2 y T3 estuvo disponible para ingresar a clasificación y embolse el día 18/05 y 08/06, respectivamente. Sin la aplicación de tratamiento (T0), el material no estuvo disponible en condiciones adecuadas durante el tiempo del experimento (de acuerdo al valor calculado, esto habría sido posible el día 27/06). Considerando que una vez confirmada la superación de la dormición y hasta la obtención de los certificados de calidad que habilitan el despacho de las bolsas terminadas, transcurren aproximadamente 15 días y tomando como fecha máxima de despacho de bolsas el 15/06 (cronograma interno de Nuseed SA) para el área Norte (Norte de Santa Fe y Chaco), tanto el T1 como el T2 podrían haber cumplido satisfactoriamente con el objetivo comercial, sin embargo, el tiempo demandado para el T3, estuvo muy próximo

al límite temporal disponible para contar con la producción en condiciones óptimas para la fecha establecida de despacho (15/06) y sin realizar ningún tratamiento para superar anticipadamente la dormición (T0), hubiera sido imposible abastecer con dicho material (Nusol 4510 CLAO) a la región Norte. En el caso de lotes para exportación o para contraestación, los márgenes de tiempo de producción son más acotados aún y estrictos, con lo cual, la producción de este material sin tratamientos para superar anticipadamente la dormición y aún bajo las condiciones del T3, sería inviable.

CONCLUSIONES

La técnica de aplicación de aire frío y seco (10 °C - 50 %HR) mostró ser la más eficiente en cuanto a acelerar la superación de la dormición de los aquenios de girasol del híbrido Nusol 4510 CLAO, reduciendo en promedio a casi la mitad el número de días de almacenamiento necesarios para alcanzar el 85 %G (37 días) respecto a los demás tratamientos utilizados (58 y 81 días para el T2 y el T3, respectivamente). Esto posibilitó la disponibilidad del híbrido en condiciones adecuadas para su comercialización dentro de los tiempos de planificación preestablecidos por la empresa Nuseed SA para satisfacer tanto la demanda local como externa, poniendo a este tratamiento en ventaja frente a los demás y más aún en comparación con el testigo sin tratamiento (T0), el cual no alcanzó el 85 %G durante el tiempo de almacenamiento evaluado.

Para el momento en el cual en el T1 se superó la dormición de los aquenios de girasol (85 %G) el tratamiento de insuflado alternado de aire frío y seco con aire en condición ambiente (T2) y el tratamiento de insuflado de aire a condición ambiente (T3) no presentaron diferencias significativas entre sí, alcanzando, aproximadamente el 50 %G, en tanto el Testigo sólo logró ~25 %G.

Estos resultados concuerdan con antecedentes bibliográficos que sostienen que aquenios de girasol almacenados con humedades mayores a 8%, tal como ocurrió en el presente trabajo, aceleran la superación de la dormición por temperaturas de almacenamiento menores a 15 °C.

Los costos operativos incurridos (U\$S 0,1/bolsa) en el empleo del insuflado de aire frío y seco (10 °C – 50 %HR) tienen muy bajo impacto sobre el valor de comercialización por bolsa (aprox. U\$S 100/bolsa). Por otro lado, el empleo de esta técnica como método para anticipar la superación de la dormición de aquenios de girasol posibilitó acceder en menor tiempo respecto al T2 con las bolsas aptas para comercialización en la zona Norte del área Nacional de siembra de girasol (Norte de Santa Fe y Chaco) donde actualmente se concentra el 40% aproximadamente del mercado y hubiera permitido acceder a mercados de contraestación. Esta disponibilidad de bolsas en condición comercial hubiera sido muy ajustada para el T3 e imposible sin utilización de alguna técnica de superación anticipada de la dormición (T0).

Los resultados obtenidos en este trabajo experimental, permiten concluir que la técnica utilizada empíricamente a nivel industrial por la empresa Nuseed SA para acelerar la superación de la dormición de aquenios de girasol en el híbrido Nusol 4510 CLAO es la más adecuada, con un bajo impacto económico y permite disponer de material en condición comercial para mercados donde sería imposible acceder sin la utilización de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirrezábal, L.A.N.; Orioli, G.A.; Hernández, L.F.; Pereyra V.R. y Miravé, J.P. (2001). Girasol. Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. Unidad Integrada Balcarce INTA (Estación Experimental Agropecuaria Balcarce) y la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Mar del Plata.
- Agüero M.E., Pereyra V.R., Aguirrezábal L.A.N. y Lúquez J., (1999), Rendimiento de grano y porcentaje de aceite de híbridos de girasol "alto oleico" cultivados en Argentina, AGRISCIENTIA, VOL. XVI: 49-53.
- Arata, GJ; Riveira Rubin, M; Batlla, D y Rodríguez, MV. (2019). Efecto del contenido hídrico y la temperatura durante el almacenaje sobre la salida de la dormición en frutos de girasol (*Helianthus annuus*). Actas del 7º Congreso Argentino de Girasol ASAGIR (Asociación Argentina de Girasol).
- Arias D.M. y Rieseberg L.H., (1994). Gene Flow between cultivated and wild sunflowers. *Theor Appl Genet* 89: 665-660.
- ASAGIR, <http://www.asagir.org.ar/>.
- Bartosik, R; Abadía, B; Cardoso, L; de la Torre, D y Maciel, G (2016) Almacenamiento y acondicionamiento de girasol. Un enfoque hacia las buenas prácticas 1ra. Edición. Ediciones INTA. EEA Balcarce ISBN 978-987-521-685-3.
- Baskin JM and Baskin CC (1976). High temperature requirement for afterripening in seeds of winter annuals. *New Phytologist* 77, 619–624.
- Bazin, J; Batlla, D; Dussert, S; El-Maarouf-Bouteau, H and Bailly, C (2011). Role of relative humidity, temperature, and water status in dormancy alleviation of sunflower seeds during dry after-ripening. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 62, No. 2, pp. 627–640.
- 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.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM and Nonogaki H. (2013). *Seeds Physiology of Development, Germination and Dormancy*, 3rd Edition. Springer New York Heidelberg Dordrecht London.
- Bodrone, MP. (2104) Efectos del ambiente térmico explorado durante la etapa de llenado y almacenaje sobre el nivel de dormición en frutos de girasol (*Helianthus annuus* L.). Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal con Orientación en Cultivos Extensivos. Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano. Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires.

- Bodrone MP; Rodríguez, MV; Arisnabarreta, S and Batlla, D. (2017). Maternal environment and dormancy in sunflower: The effect of temperature during fruit development. *European Journal of Agronomy*. 93-103.
- Bye, Robert & Linares, Edelmira & Lentz, David. (2009). Mexico: Centro del origen de la domesticación del girasol. *Tipo Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 12. 5-12.
- Cantamutto M., Presotto A., Poverene M., Rivas J., Matarazzo R., Renzi J., (2007), *Helianthus* que amenazan la producción de semilla de girasol en el valle bonaerense del río Colorado. *Boletín técnico* N° 16, 5-19.
- Cantamutto M.A., Poverene M.M., Presotto A.D., Fernández Moroni I., Gutiérrez A., Ureta M. S., Casquero M.J., (2010). ¿Está domesticado el girasol?. *Ciencia hoy*, Volumen 20, N° 115, pp. 21-29.
- Corbineau F., Bagniol S. and Come D., (1990), sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed dormancy and its regulation by ethylene. *Israel Journal of Botany*. 39, 313-325.
- Crites GD (1993). Domesticated Sunflower in Fifth Millennium B.P. Temporal Context: New Evidence from Middle Tennessee. *American Antiquity*, 58, pp.146–148.
- Fenner M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research*, 1: 75-84.
- Fick G.N. & Zimmer D.E., (1976). No Title, In I. S. Assoc., ed. 7th Int. Sunflower Conf. Krasnadar, Paris, France, pp. 253–258.
- Gutiérrez A. y Poverene M.M., (2008) Germinación y dormición en girasol silvestre (*Helianthus petiolaris*) y cruces con girasol cultivado. *Revista Análisis de Semillas*. ISSN 1851-1678.
- Harter A. V., Gardner K. A., Falush D., Lentz D. L., Bye R. A., (2004). Origin of extant domesticated sunflowers in eastern North America, *Nature*, 430, 201-205.
- ISTA, (2017). International Seed Testing Association International rules for seed testing. Ed. 2017. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- Jan C.C., Vick V.A., Miller J.F., Kahler A.L. & Butler E.T., (1998). Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 96(1), pp.15–22. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s001220050703> [Accessed Feb 20, 2020].
- Kermode, Allison. (2005). Role of Abscisic Acid in Seed Dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*. 24. 319-344.

- Le Page-Degivry M.T. and Garello G., (1991). In situ abscisic acid synthesis. A requirement for induction of embryo dormancy in *Helianthus annuus*. *Plant Physiology* 98: 1386-1390.
- Marques Pereira, JA; y Marcal de Queiroz, D (1991). Principios de secado de granos psicometría higroscopia. OFICINA REGIONAL DE LA FAO PARA AMERICA LATINA Y EL CARIBE Santiago, Chile Serie: Tecnología Poscosecha.
- Montoya J. C., (2016). Malezas en el cultivo de girasol: estrategias de manejo y control, Boletín de divulgación técnica N° 114.
- Oracz K, El-Maarouf-Bouteau H, Farrant J, Cooper K, Belgazhi M, Job C, Job D, Corbineau F, Bailly C. (2007). ROS production and protein oxidation as a novel mechanism of seed dormancy alleviation. *The Plant Journal* 50, 452–465.
- Paniego N., Heinz R., Fernandez P., Talia P., Nishinakamasu V., and Hopp H.E. (2007) Sunflower. *In: Kole C. (ed.) Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Volume 2 Oilseeds*, Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, pp. 153–177.
- Poverene M., Cantamutto M.A., Carrera A.D., Ureta M.S., Salaverry M.T., Echeverria M., Rodriguez R.H., (2002). El girasol silvestre (*Helianthus* spp.) en la argentina: Caracterización para la liberación de cultivares transgénicos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias RIA* 31: 97-116.
- Raven P. H. and Axelrod D. I, (1974). Angiosperm Biogeography and Past Continental movements.
- Rodríguez MV, Bodrone MP, Castellari MP, Batlla D., (2018). Effect of storage temperature on dormancy release of sunflower (*Helianthus annuus*) achenes. *Seed Science Research* <https://doi.org/10.1017/S0960258518000065>.
- Rolletschek H., Borisjuk L., Sánchez- García A., Gotor C., Romero L.C., Martínez- Rivas J.M., Mancha M., (2007). Temperature- dependent endogenous oxygen concentration regulates microsomal oleate desaturasa in developing sunflower seeds, *Journal of Experimental Botany*, 12: 3171-3181.
- Romano M.C., Vázquez A.N., Bertero de Romano A., (2013) Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed dormancy period: a comparison between two hybrids. <https://pdfs.semanticscholar.org/1d34/e1671853199c38f0fa1edd210beda8fb6606.pdf>
- Satorre EH, Benech Arnold RL, Slafer GA, de la Fuente EB, DJ, Otegui ME y Savin, R, (2012). Producción de granos, bases funcionales para su manejo. Pp 785. Editorial Facultad de Agronomía UBA.
- Schilling E. and Heiser C. B., (1981). An infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae) *Taxon*, Vol. 30, No. 2, pp. 393-403.

- Seiler G.J., Rieseberg L.H. (1997). Systematics, origin and germplasm resources of the wild and domesticated sunflower (21-66). In A.A. Schneiter ed. Sunflower technology and production. Agronomy monograph nº 35.
- Seo M. and Koshiba T., (2002). Complex Regulation of ABA Biosynthesis in Plants. Trends in Plant Science, 7, 41-48. [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02187-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02187-2) [Accessed Feb 20, 2020].
- Smith B.D. & Yarnell R.A., (2009). Initial formation of an indigenous crop complex in eastern North America at 3800 B.P. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(16), pp.6561–6. Available at: 164 B i b l i o g r a f í a s <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2666091&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed Feb 20, 2020].
- Szemruch, CL (2017). Influencia del desecado químico del cultivo sobre el rendimiento y calidad de semillas híbridas de girasol. Universidad Nacional del Sur. Tesis de Doctor en Agronomía.
- Ureta M.S., (2010). Flujo génico entre girasol cultivado y silvestre en la Argentina. Universidad Nacional del Sur. Tesis de Doctor en Agronomía.
- Vujaković M., Radić V., Miklič V., Jovičić D., Balešević-Tubić, S., Mrđa, J., Škorić D., (2012). Seed dormancy of hybrids and parent lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). HELIA, 35, Nr. 56, p.p. 111-118.
- Xia Q., Saux M., Ponnaiah M., Gilard F., Perreau F., Huguet S., Balzergue S., Langlade N., Bailly C., Meimoun P., Corbineau F., El-Maarouf-Bouteau H., (2018). One Way to Achieve Germination: Common Molecular Mechanism Induced by Ethylene and After-Ripening in Sunflower Seeds. International Journal of Molecular Science. 19, 2464; doi:10.3390/ijms19082464.
- Xia Q., Ponnaiah M., Thanikathansubramanian K., Corbineau F., Bailly C., Nambara E., Meimoun P. & El-Maarouf-Bouteau H., (2019). Re-localization of hormone effectors is associated with dormancy alleviation by temperature and after-ripening in sunflower seeds. Scientific Reports | (2019) 9:4861 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40494-w>.