



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES PRE-  
COSECHA Y EL TAMAÑO DE LA SEMILLA SOBRE LA CALIDAD  
FISIOLÓGICA DE LAS SEMILLAS DE SOJA (*Glycine max* L. Merr.)**

**Ing. Agr. Luciano Colla**

TRABAJO FINAL PARA OBTENER EL TITULO DE

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

Directora: Julieta S. Bianchi  
Co-Director: Eligio N. Morandi

2020

**INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES PRE-COSECHA Y EL  
TAMAÑO DE LA SEMILLA SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE LAS  
SEMILLAS DE SOJA (*Glycine max* L. Merr.)**

Luciano Colla

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional de Rosario

Éste trabajo final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado de Especialista en Producción de Semillas de Cereales, Oleaginosas y Forrajeras de la Universidad Nacional de Rosario (UNR) y no ha sido previamente presentado para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. El mismo contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Eco-Fisiología Vegetal (LEFIVE), localizado en la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR, Zavalla, Provincia de Santa Fe, durante el período comprendido entre Octubre de 2017 y Agosto de 2018, bajo la dirección de la Dra. Julieta S. Bianchi.

---

**Ing. Agr. LUCIANO COLLA**

---

**DRA. RAQUEL BENAVIDEZ**

---

**DR. CARLOS GOSPARINI**

Defendida: 16 de Junio de 2020

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar quiero agradecer a mi directora Ing. Agr. Julieta Bianchi quien me acompañó desde el primer día, me guio y estuvo presente en cada paso que fui dando para llevar adelante este trabajo. A mi co-director Ing. Agr. Eligio Morandi por el tiempo que dedicó a la lectura y corrección de la tesis, por las sugerencias y el detalle con el que analizó cada resultado.

Agradezco a todo el grupo de Fisiología Vegetal por el apoyo recibido desde el primer día que inicié con las actividades, por brindarme un espacio para poder llevar adelante este proyecto y por aportarme nuevos conocimientos y herramientas que me permitieron cumplir con todas las tareas propuestas. Les agradezco además, por la gran predisposición que presentaron ante las distintas inquietudes que iban surgiendo. Les agradezco a Cacho Gosparini y Nidia por la ayuda, consejos y conocimientos que me brindaron durante el tiempo que estuve desarrollando este trabajo.

Agradezco a toda mi familia por haberme acompañado y confiado en mí, a mis padres por darme una educación y la oportunidad de continuar con mi formación profesional y por el aguante durante todos estos años. A mi hermana que siempre está presente para ayudarme, escucharme y brindarme un consejo cuando lo necesito. A mis abuelos que mientras los tuve me dieron todo su apoyo y un amor incondicional, y hoy desde donde estén siento que me siguen guiando y acompañando.

Además quiero agradecer a mi amor, compañera de vida, quien me aguanto en momentos difíciles, y más de una vez estuvo para ayudarme en cada paso.

Por último quiero agradecer a todos los alumnos que participaron como pasantes de la práctica pre-profesional, realizada durante el desarrollo de las actividades experimentales, que han puesto toda su voluntad y compromiso. A mis compañeros de la Especialización por los buenos momentos que compartimos y el buen clima a lo largo todo el camino. Gracias a todos!!!!

***“ÉXITO ES LA SUMA DIARIA DE LOS PEQUEÑOS LOGROS”***

## **DEDICATORIAS**

Le dedico este trabajo a mi Familia, a mi amor Pamela y a todos los seres queridos que han aportado cada granito de arena.

## ABREVIATURAS

**CE:** Conductividad Eléctrica

**CF:** Calidad Fisiológica

**DDMF:** Días desde Madurez Fisiológica

**DPV:** Déficit de Presión de Vapor Atmosférico

**FS:** Fecha de Siembra

**FS1:** Primera Fecha de Siembra

**FS2:** Segunda Fecha de Siembra

**GM:** Grupo de Madurez

**HS:** Humedad de la Semilla.

**HR:** Humedad Relativa de la Atmósfera

**MC:** Madurez Comercial

**MF:** Madurez Fisiológica

**Pg:** Poder Germinativo

**PgCE:** Poder Germinativo por Conductividad Eléctrica

**PgGE:** Poder Germinativo por Germinación Estándar

**T:** Temperatura

**TZ:** Tetrazolio

**V:** Viabilidad

**Vig:** Vigor

**VigCE:** Vigor por Conductividad Eléctrica

**VigEA:** Vigor por Envejecimiento Acelerado

**VigTZ:** Vigor por Tetrazolio

**VTZ:** Viabilidad por Tetrazolio

**P1000:** Peso de Mil Semillas

## RESUMEN

La calidad fisiológica (CF) de semillas de soja puede verse afectada por el ambiente de producción, el manejo del cultivo, las condiciones ambientales pre- y post-cosecha y el mejoramiento genético. De estos factores, uno de los más importantes, son las condiciones ambientales que prevalecen durante los períodos de madurez fisiológica (MF) a madurez comercial (MC) y de MC hasta la cosecha efectiva (CO). En Argentina, en la principal zona productora de semillas, en uno de cada cuatro años se produce un significativo deterioro de la calidad de la semilla debido a condiciones climáticas adversas presentes en el período mencionado. En general, condiciones de alta humedad relativa (HR) y alta temperatura (T) y/o la alternancia de humedecimiento y desecación posterior a que el cultivo alcanzó la MF y previos a la cosecha, favorecen al deterioro de las semillas impactando sobre distintos atributos de la CF como la viabilidad, el vigor y el poder germinativo. En general se ha establecido que retrasos en la fecha de siembra y/o cosecha afectan severamente la CF de las semillas. Sin embargo, en ningún caso se ha estimado con exactitud el momento en que la semilla ya no cumple con los estándares de calidad comercial y su relación con las condiciones ambientales que prevalecieron durante el período MF-CO. Tampoco se ha establecido si hay un momento fenológico en el cual el cultivo es menos susceptible al deterioro por condiciones ambientales desfavorables (weathering). Otros factores de gran importancia que puede influir en la CF de las semillas son los genéticos, entre los que se encuentra el tamaño de las semillas. En relación a esta variable, poco se conoce acerca de la evolución del deterioro en semillas de distinto tamaño a partir de MF, si esta evolución es diferente en condiciones ambientales contrastantes o si hay diferencias en el momento en que semillas de distinto tamaño ya no cumplen con los estándares de calidad comercial. Es por ello que los objetivos del presente estudio fueron: i) Determinar cómo influye la fecha de siembra y/o el momento de cosecha sobre la CF de la semilla de soja, ii) Evaluar cómo varía la CF de semillas de soja con diferente tamaño, en función del tiempo transcurrido entre la MF y el momento de la cosecha en dos fechas de siembra contrastantes, iii) Estimar en función de las condiciones ambientales imperantes en precosecha, el momento en el que las semillas de soja ya no cumplen con los estándares de calidad comercial, iv) Determinar si hay un período, entre la MF y la cosecha en el que las semillas son menos susceptibles al deterioro por “weathering”. Para cumplir con estos objetivos se utilizaron dos variedades comerciales que diferían en el tamaño de las semillas: A 5009 RG (semilla grande, 195 g) y A 6126 RG (semilla pequeña, 126 g). Con el objeto de generar condiciones ambientales contrastantes, ambos genotipos fueron sembrados en dos fechas de siembra (FS), una temprana (FS1, 30 de Noviembre, 2017) y la otra tardía (FS2, 04 de Enero, 2018). A partir de MF se realizaron muestreos periódicos en los que se evaluaron distintos atributos de CF hasta los 105 días luego de la MF. Los resultados obtenidos demostraron que el grado de deterioro que presentaron las semillas por condiciones ambientales adversas durante el período de MF-cosecha, estuvo afectado por el estadio fenológico en que se encontraba el cultivo y por el

contenido de humedad de la semilla (HS). Se demostró que si en el momento en el que se producen condiciones ambientales adversas (i.e. alta humedad relativa y alta temperatura), las semillas se encuentran en MF o con niveles de HS superiores a los de cosecha, la resistencia al deterioro es mayor, permitiendo conservar valores de CF elevados durante un período de tiempo más prolongado. Para todos los tratamientos se probó además que los valores de CF se mantuvieron altos durante prácticamente todo el período de MF-MC. Por otro lado, se observó que las variables fecha de siembra y cosecha no permitieron predecir con exactitud el momento en el que se produce el deterioro de la CF semillas. Es por ello, que se postula a la HS como variable predictora del impacto que podrían tener las condiciones ambientales sobre la CF de las semillas durante el período de MF a cosecha. En relación al tamaño de la semilla se observó, para ambas FS, una mayor resistencia al deterioro en la variedad de semillas pequeñas. La existencia de variabilidad genética en la resistencia al deterioro pre-cosecha evidencia la importancia de incluir esta característica como factor de selección, en los planes de mejoramiento orientados a disminuir la incidencia de los factores ambientales adversos sobre la CF de las semillas de soja.

**Palabras Claves:** Soja, Semilla, Calidad Fisiológica.

## ABSTRACT

Physiological quality (PQ) of soybean seeds can be affected by weather conditions, crop management, pre- and post-harvest environment, and breeding. Several studies have shown that delaying the sowing date and/or harvest can affect severely seed quality. However, it had not been accurately estimated the time that seeds not satisfying the commercial quality standards and its relation with the weather conditions prevailing from PM to harvest. It is also unknown if there is a phenological stage in which crops are less susceptible to the damage produced by adverse environmental conditions (weathering). Otherwise, genetic factors such as seed size (SZ) can also affect seed PQ. Thus, the objectives of this study were: i) Determine the effect of sowing date and harvest time on PQ of soybean seeds, ii) Evaluate how PQ of soybean seeds change in varieties with different SZ from PM to harvest time in two contrasting sowing dates, iii) Estimate the time when soybean seeds not longer satisfy the commercial quality standards in relation to pre-harvest weather conditions, iv) Determine if there is a period from PM to harvest, in which seeds are less susceptible to weathering deterioration. Two soybean varieties differing in SZ (large seed, 195 mg, and small seed, 126 mg) were sown at early and late sowing dates. From PM and during a period of 105 days, samples were taken regularly to evaluate PQ of seeds. Results demonstrated that the seed level of damage caused by adverse environmental conditions during the PM-harvest period essentially depend on the crop phenological stage and seed moisture (SM) content. It was proved that if during adverse weather conditions crops are in PM or with SM greater than harvest levels, the deterioration resistance is higher, keeping up the PQ of seeds for a longer period of time. Also, PQ remains high during the PM-commercial maturity period. In addition, sowing date and harvest time variables were not useful to accurately predict the time that seed PQ is damaged. So, we postulate SM as a predictor variable of the effect of weather conditions on seed PQ during the PM-harvest period. Related to SZ, a higher resistance of deterioration was observed for the small SZ. The existence of genetic variability in the resistance to pre-harvest deterioration shows the importance of including this characteristic, as selection criteria, in breeding plans aimed to reduce the incidence of adverse environmental factors on the PQ of soybean seeds.

## INDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	5
<b>RESUMEN</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	8
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
1.1. Generalidades del cultivo de soja .....	13
1.2. Calidad fisiológica de la semilla de soja .....	14
1.3. Factores que influyen sobre la calidad fisiológica de semillas de soja .....	16
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
2.1. Material Vegetal .....	20
2.2. Diseño experimental.....	21
2.3. Determinaciones de laboratorio .....	22
2.4. Análisis estadístico.....	26
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	28
<b>4. CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	52

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1** Características de los genotipos comerciales originalmente evaluados para el ensayo.

**Tabla 2.** Características de los genotipos comerciales seleccionados para el ensayo de campo.

**Tabla 3.** Fechas de los estadios fenológicos correspondientes a cada genotipo y fecha de siembra.

**Tabla 4.** Análisis de la varianza de las variables caracterizadas en el ensayo: humedad de la semilla (HS), prueba de germinación estándar (PgGE), poder germinativo por conductividad eléctrica (PgCE), Vigor por envejecimiento acelerado (VigEA), Vigor por conductividad eléctrica (VigCE), Vigor por tetrazolio (VigTZ) y Viabilidad por tetrazolio (VTZ), para cada fecha de siembra (FS), genotipo (G) y momento de cosecha (CO), y sus respectivas interacciones.

**Tabla 5.** Descripción de los daños (expresados en %) identificados por la Prueba de Tetrazolio en los dos genotipos 5009 (semilla grande) y 6126 (semilla pequeña), en las dos fechas de siembra y en los diferentes momentos de medición (DDMF).

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Viabilidad por Tetrazolio (% de semillas viables) en función de los Días Desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es menor que el tamaño del símbolo. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (90 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha, según LSD ( $P < 0,05$ ). Las flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

**Figura 2.** Poder Germinativo por Prueba de Germinación Estándar (% de plántulas normales; 2A) y por Conductividad Eléctrica (% estimado de poder germinativo; 2B), en función de los Días desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es menor que el tamaño del símbolo. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (80 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha según LSD ( $P < 0,05$ ). Las flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

**Figura 3.** Vigor por Envejecimiento Acelerado (% plántulas normales; 3A), Vigor por Conductividad Eléctrica (% de semillas vigorosas; 3B) y Vigor por Tetrazolio (% de semillas vigorosas; 3C) en función de los Días desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es muy pequeño. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (80 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha según LSD ( $P < 0,05$ ). Las

flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

**Figura 4.** Evolución diaria de la Temperatura Media (T, °C) y la Humedad Relativa (HR, %) (4 A); el déficit de presión de vapor atmosférico (DPV, kPa) (4 B), y las lluvias (mm) (4 C) desde la madurez fisiológica (MF) - 4 d del genotipo 5009 (más precoz) en la fecha de siembra 1 (FS1), hasta MF + 105 d del genotipo 6126 (más tardío) en la fecha de siembra 2 (FS2). Las flechas de trazo fino indican Madurez Fisiológica (MF) y las de trazo grueso Madurez Comercial (MC), para los genotipos 5009 (azul) y 6126 (rojo). Para la MF las flechas finas enteras y punteadas corresponden a las FS1 y F2, respectivamente. Para la MC las flechas gruesas llenas y vacías corresponden a las FS1 y FS2, respectivamente. El recuadro dentro de cada figura corresponde a un temporal de alta HR, bajo DPV y abundantes precipitaciones que se registró desde el 28/04 hasta el 10/05.

**Figura 5.** Evolución de la Humedad de la Semilla en función de los días desde Madurez Fisiológica. Las barras azules corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes) y las barras rojas al genotipo 6126 (semillas pequeñas), sembrados en la fecha de siembra 1 (FS1, barras llenas) y en la fecha de siembra 2 (FS2, barras vacías).

**Figura 6.** Viabilidad por Tetrazolío (% de semillas viables; 6A), Poder Germinativo por Prueba de Germinación Estándar (% de plántulas normales; 6B) y Vigor por Envejecimiento Acelerado (% plántulas normales; 6C), en función del contenido de Humedad de las semillas (HS). Los círculos corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes, azul) y los cuadrados al genotipo 6126 (semillas pequeñas, rojo), sembrados en la fecha de siembra 1 (FS1), símbolos llenos, y fecha de siembra 2 (FS2), símbolos vacíos. Cada punto corresponde a una repetición. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para cada una de las variables caracterizadas (90, 80 y 80 %, para porcentaje de semillas viables y plántulas normales por GE y EA, respectivamente). MF: Madurez Fisiológica y MC: Madurez Comercial.

**Figura 7.** Evolución de la caída en el poder germinativo (% disminución de plántulas normales), evaluado a través de la prueba de Germinación Estándar (GE), en función de la Humedad de la Semilla (HS) de cada genotipo previo al período de condiciones ambientales desfavorables (28/04 al 10/05). Para la fecha de siembra 1 (FS1), como la caída en los valores de PgGE se dio a los 60 DDMF para ambos genotipos, el % se calculó como la diferencia de PgGE en ese momento y cuando la semilla alcanzó la MC. En cambio para la fecha de siembra (FS2), el % se calculó como la diferencia de PgGE a los 45 DDMF (momento de caída en los valores de PgGE) y a la MC. Los círculos corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes, azul) y los cuadrados al genotipo 6126 (semillas pequeñas, rojo), sembrados en las FS1 (símbolos llenos) y FS2 (símbolos vacíos).

## LISTA DE FOTOS

**Foto 1.** Prueba de Germinación Estándar para los genotipos 5009 y 6126 en la fecha de siembra 1 (1A y 1B, respectivamente) y fecha de siembra 2 (1C y 1D, respectivamente), correspondientes al muestreo tomado a los 105 días desde la madurez fisiológica.

**Foto 2.** Imágenes por pantalla de la PC de análisis de CE del SAD 9000-S donde se muestran los valores de una medición de CE en cada una de las celdas en los distintos tratamientos y valores estimados de Vigor y Poder Germinativo para los genotipos 5009 y 6126 sembrados en la fecha de siembra 1 (2A y 2B, respectivamente) y fecha de siembra 2 (2C y 2D, respectivamente), correspondientes al muestreo realizado a los 105 días desde la madurez fisiológica.

**Foto 3.** Ejemplos de semillas caracterizadas a partir de la prueba de tetrazolio con distintos tipos y niveles de daños. Semillas viables sin defectos (a), daño ambiental tradicional moderado (b), daño ambiental más picadura de chinche (semilla no viable; c), otros tipos de daños como tejidos inmaduros (semilla no viable; d) y malformaciones genéticas (semilla no viable; e).

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Generalidades del cultivo de soja**

La soja es la oleaginosa que mayor superficie ocupa en el mundo, siendo Estados Unidos, Brasil y Argentina, los principales países productores y exportadores. Además, es la principal fuente de proteína vegetal para la alimentación animal, y la segunda fuente de aceite vegetal después del aceite de palma (<http://inta.gob.ar>). Particularmente en Argentina, su cultivo masivo comenzó en la década de 1970, con un área sembrada de 660.000 hectáreas (ha) y 1.400.000 toneladas (t) producidas en la campaña 1976/77. En los siguientes años su producción mostró un desarrollo creciente y sostenido llegando a 17.300.000 ha sembradas y 56.500.000 t producidas para la campaña 2018/19 (BCR, 2019), lo que representa un aumento de 27 veces la cantidad de hectáreas sembradas respecto a la campaña 1976/77. Del total de la producción de soja nacional, la región pampeana con 450.000 km<sup>2</sup>, procesa y comercializa el 80% (Martino et al., 2008). El incremento de la superficie sembrada en estos últimos años ha llevado a un aumento en el uso de insumos al inicio de la campaña, siendo la semilla el principal y más importante insumo en cualquier sistema agropecuario. Frente a este panorama, surge entonces la necesidad de contar con la disponibilidad de lotes de semillas de óptima calidad a fin de lograr siembras exitosas en términos de rapidez y uniformidad en la implantación del cultivo (Gallo et al., 2011).

Por otro lado, la vasta distribución geográfica que ha alcanzado este cultivo a nivel mundial se ha debido a su plasticidad genética, presentando variedades que se adaptan a las distintas combinaciones climáticas, lo que ha permitido seleccionar genotipos adaptados a cada zona de producción. La soja presenta una gran variabilidad en la longitud de su ciclo, definido en función de los días desde la siembra hasta la madurez para una latitud determinada, debido principalmente a la respuesta diferencial de cada genotipo a la temperatura y al fotoperíodo, lo que permitió agrupar originalmente a los mismos en 13 grupos de madurez (GM, del 000 al X). Actualmente, con el propósito de hacer más precisa la caracterización del ciclo de un determinado cultivar, se utiliza el concepto de grupo de madurez relativo, en el que se identifica el grupo de madurez con un número arábico seguido de un decimal, lo que permite subdividir en diez cada GM tradicional (Zhang et al., 2007). La disponibilidad de distintos GM y de diferentes hábitos de crecimiento (indeterminado, determinado y semi-determinado) se ha constituido en

la principal estrategia de manejo para ubicar los períodos críticos en momentos de mejor oferta ambiental (adecuación del ciclo a la oferta ambiental). A pesar de ello, en las zonas de producción, la soja puede estar expuesta a situaciones aleatorias de sequía o de exceso de precipitaciones durante todo su ciclo ontogénico, generando estreses hídricos de intensidad y duración variable que ocasionan importantes pérdidas tanto de rendimiento en grano como en la calidad fisiológica (CF) y bioquímica de la semilla (Specht et al., 1999; Baigorri y Croatto, 2000; Oya et al., 2004; Sinclair et al., 2007).

## **1.2. Calidad fisiológica de la semilla de soja**

La calidad fisiológica (CF), aplicada a un lote de semillas de cualquier especie, se refiere a la aptitud del conjunto de semillas individuales de alcanzar una adecuada implantación del cultivo en el campo.

Se ha postulado que la CF de las semillas de soja alcanza su máximo en la madurez fisiológica (MF, definida como el fin del período de llenado, momento en el que la semilla alcanza su máximo peso seco y su contenido de humedad es 50-55 %) (Harrington, 1972; Delouche, 1980; Miles et al., 1988). Sin embargo, otros autores postulan que la máxima CF se obtiene cuando finaliza el proceso de desecación, que es la última fase del desarrollo, y se alcanza el estado de semilla madura y seca (definido como el momento en que el contenido de humedad de la semilla ha descendido naturalmente hasta 14-15 %) (Ellis et al., 1987; Zanakis et al., 1993 y 1994). Este último estadio suele denominarse también madurez comercial (MC). Además, dado que la cosecha (CO) se suele realizar luego de alcanzada la MC, desde el punto de vista fisiológico, y basándonos en la HS, el período MF-CO puede dividirse en dos sub-períodos: MF-MC y MC-CO, durante los cuales los factores ambientales (tanto bióticos como abióticos) pueden afectar diferencialmente la CF de las semillas.

En este contexto, es necesario aclarar que los estadios fisiológicos basados en la humedad de la semilla (HS) no coinciden exactamente con los estadios fenológicos observados en el campo. Si bien la MF suele coincidir, aproximadamente, con el estadio R7 (inicio de madurez, una vaina normal en el tallo principal con el color típico de vaina madura), se requieren de 5 a 10 días de tiempo seco luego de R8 (final de la madurez, momento en el que el 95% de las vainas de la planta presentan el color típico de vaina madura) para que las

semillas reduzcan su contenido de humedad a menos del 15 % (MC) (Fehr y Caviness, 1977).

La CF de una semilla está definida por diferentes atributos, los cuales se los puede diferenciar como primarios y secundarios. Dentro de los atributos primarios se encuentra la viabilidad (V), el poder germinativo (Pg), el vigor (Vig) y la sanidad, y dentro de los secundarios, encontramos la pureza genética, la pureza físico-botánica, la HS, la integridad de las membranas, el aspecto de la semilla, la densidad, el tamaño, la forma y el peso.

La V de un lote de semillas habla de la condición primaria de “estar vivas”, se remite a semillas viables que poseen el potencial de producir una plántula normal. Para el caso de simiente de soja este valor debería ser igual o superior al 90 %, y ello significa que este atributo es de primerísima importancia y sin el cual no se pueden esperar mayores valores de Pg y/o de Vig (Craviotto et al., 2011). De tal manera que estos dos últimos atributos de la calidad son altamente dependientes del grado de V del lote de semillas. El Pg se refiere a la capacidad de la semilla para germinar y producir una plántula normal bajo condiciones ambientales óptimas. Este atributo es el más utilizado dado que para la comercialización de semillas de soja se exige un valor mínimo de 80 % (INASE, 2003). El Vig se define como la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y comportamiento de lotes de semillas de germinación aceptable en un amplio rango de ambientes (ISTA, 2015). A diferencia del Pg, el Vig no presenta un valor mínimo de comercialización. Sin embargo, Egli y TeKrony (1995) establecieron que con valores de Vig mayores al 80 %, las semillas son consideradas de alto Vig, con valores entre 60 % y 80 % el Vig es medio y con valores menores a 60 % la semilla es considerada de bajo Vig. Si bien los atributos primarios de calidad como V, Vig y sanidad no son obligatorios para la comercialización son de gran importancia para determinar la calidad de un lote de semillas.

El uso de semillas de soja de buena calidad posee una serie de ventajas al momento de realizar la siembra. Entre dichas ventajas se mencionan la capacidad de germinar y producir una plántula con aptitudes para desarrollarse normalmente. Esto está íntimamente relacionado con una buena condición de V debido a que las semillas que germinan y producen plántulas normales poseen sus estructuras esenciales sanas y vigorosas. Además, permite minimizar de manera importante los riesgos de fallas en la emergencia, permitiendo aprovechar el momento oportuno de siembra y evitar los perjuicios tanto económicos como agronómicos (e.g. retraso en la fecha óptima) que implica una resiembra. Por último, disponer

de semilla de alta CF posibilita contar con una garantía de desempeño satisfactorio en condiciones ambientales variables. Esta característica de los lotes de semillas corresponde a su condición de Vig, el cual es uno de los atributos más importantes a tener en cuenta al momento de seleccionar un lote de semillas para la siembra (Gallo et al., 2011).

### **1.3. Factores que influyen sobre la calidad fisiológica de semillas de soja**

La CF de las semillas de soja puede verse afectada por el ambiente de producción, manejo del cultivo, factores ambientales pre- y post-cosecha, así como por el mejoramiento genético (Casini et al., 1997). De estos factores, uno de los más importantes, son las condiciones ambientales que prevalecen durante el período MF-CO. En Argentina, en la zona productora de semillas, en uno de cada cuatro años se produce un significativo deterioro de la calidad de la semilla debido a condiciones climáticas adversas presentes en el período mencionado (Casini, et al., 1997). Estos daños ambientales afectan la V, el Vig y el Pg de las semillas.

En diversos trabajos se ha observado que condiciones de alta humedad relativa y alta temperatura y/o la alternancia de humedecimiento y desecación posterior a que el cultivo alcanzó la MF y previos a la cosecha, favorecen al deterioro de las semillas (Cartter y Hartwig, 1962; Delouche et al. 1962; Diniz et al., 2013). Este rápido deterioro y la posterior pérdida de calidad de las semillas, previas a la cosecha, debido a condiciones ambientales adversas es conocido universalmente como “weathering” (Andrews, 2016). Este fenómeno puede causar entre otros daños, el agrietamiento del tegumento de las semillas, aumentando la posibilidad de que las mismas se dañen durante el procesamiento, acondicionamiento y manejo. También favorece la infección por patógenos como *Phomopsis spp.* (Forti et al., 2013).

En comparación con otros cultivos, la semilla de soja se deteriora más rápidamente durante el período MF-CO (Priestley et al., 1985). Esto se debe en parte a la presencia de una capa seminal altamente permeable, a través de la cual la semilla absorbe fácilmente la humedad, retrasando su deshidratación y favoreciendo altas tasas respiratorias que reducen no solo la cantidad de azúcares y otros materiales almacenados en las semillas, sino también su calidad (Howell et al., 1959; TeKrony et al., 1980). Además, la semilla de soja posee dentro de su composición química altos contenidos de ácidos grasos poli-insaturados que comprometen su CF en periodos relativamente cortos (Ferguson, 1995).

El deterioro de las semillas en el campo se genera debido a daños en el sistema de membranas, la auto-oxidación de lípidos, el agotamiento de sustancias de reserva, la inhabilidad de disociación de los ribosomas, la muerte de células meristemáticas, la degradación e inactivación de enzimas, la formación y activación de enzimas hidrolíticas, la degradación de estructuras funcionales, la acumulación de sustancias tóxicas y la invasión de hongos que provocan entre otras cosas, la disminución de la velocidad de germinación, del crecimiento y del desarrollo de plántulas normales en el campo (Delouche, 2002). Por lo tanto, un factor importante a tener en cuenta para evitar este rápido deterioro debido al “weathering”, es el momento en el que se efectúa la cosecha.

Retrasos en la cosecha extienden el período de exposición de las plantas al ambiente, intensificando el deterioro de las semillas (Andrews, 2016). En este punto Green et al. (1966) informaron que cuando la cosecha de soja fue retrasada debido a la presencia de precipitaciones, semillas que habían alcanzado la humedad de cosecha, sufrieron un gran deterioro de su calidad, manifestándose a través de reducciones en la germinación y emergencia a campo. Por su parte, Diniz et al. (2013), reportaron que retrasos en la cosecha de 30 días posterior a que el cultivo alcanzó la madurez de cosecha, generaron disminuciones en el Pg y en el Vig. Similares resultados fueron observados por Nangju (1977); TeKrony y Egli (1980); Bauer et al. (2003). Una particularidad que presentan estos trabajos es que en ninguno de ellos se ha caracterizado como ha sido la evolución de los atributos de CF en el tiempo. En general se han realizado pocos muestreos luego de MF, con lo cual no es posible determinar con exactitud el momento en el que dichos atributos ya no cumplían con los estándares de calidad comercial y su posible relación con las condiciones ambientales presentes durante los períodos MF-MC y MC-CO. Por otro lado, si bien se ha establecido que la presencia de condiciones ambientales adversas luego de que el cultivo ha alcanzado la MF produce un rápido deterioro de la CF de las semillas, no se sabe con precisión si hay un período entre la MF y la cosecha en el cual el cultivo es menos susceptible al deterioro por “weathering”.

Otro de los factores de gran importancia que puede influir en la calidad fisiológica de las semillas son los genéticos. Dentro de los mismos, se encuentran aspectos relacionados con el **tegumento y/o con el tamaño de las semillas**.

En relación al **tegumento de las semillas**, el mismo ha sido íntimamente relacionado con la resistencia al deterioro (Potts et al., 1978). El tegumento de la semilla de soja consta de tres capas: la exterior, llamada epidermis, la intermedia llamada hipodermis y la más interna denominada parénquima. La epidermis está

constituida por células isodiamétricas las cuales se elongan radialmente sobre todo en la región del hilo durante el desarrollo y madurez de la semilla y es en general, la capa que le confiere mayor resistencia y protege a la semilla del efecto del daño mecánico y climático. Por su parte, la dureza de esta capa ha sido relacionada con el contenido de lignina que presenta la misma (McDonald et al., 1988; Alvarez et al., 1997; Chachalis et al., 2001; Baskin, 2003).

En relación al **tamaño de las semillas**, algunos autores sostienen que semillas pequeñas germinan más rápidamente que semillas grandes en distintos niveles de humedad. Esta mayor velocidad en la germinación sería de gran importancia para lograr obtener densidades de plantas uniformes en el campo (Green et al., 1965; Edwards y Hartwig, 1971; Adebisi, et al., 2013). Sin embargo, otros autores no han encontrado diferencias en germinación y vigor entre semillas de distinto tamaño (Rezapour, 2013). Por el contrario, Burris et al. (1973) encontraron un menor porcentaje de emergencia a campo en semillas más pequeñas. Similares resultados fueron observados en otros cultivos como en maíz (Roy et al., 1996) o en trigo. En este último cultivo se observó que el tamaño de la semilla correlacionó positivamente con el vigor, indicando que semillas más grandes producen plántulas más vigorosas (Ries y Everson, 1973).

En los trabajos mencionados anteriormente los objetivos estuvieron centrados en caracterizar como el tamaño de la semilla influía sobre distintas variables relacionadas con la calidad de las mismas y su efecto final sobre el desarrollo de las plantas en el campo. Sin embargo, los valores de calidad observados al momento de la implantación del cultivo, dependen por un lado, de las condiciones ambientales que se presentaron en la estación de crecimiento anterior, especialmente los previos a la cosecha de esa semilla, y por otro, de las condiciones de almacenamiento posteriores a la cosecha y previas a la siembra. En relación a las condiciones ambientales pre-cosecha, se han realizado pocos trabajos en los que se ha evaluado si semillas de distinto tamaño podrían presentar diferente comportamiento frente a condiciones ambientales adversas (“weathering”) previo a la cosecha del cultivo y si ello podría incidir sobre la CF de las mismas. Nangju (1977), encontró diferencias en el porcentaje de germinación entre semillas de distinto tamaño cuando las mismas fueron cosechadas en distintos momentos luego de MF. En dicho estudio se observó que para el período evaluado las semillas más pequeñas presentaron menor deterioro en relación a las semillas grandes. Similares resultados fueron presentados recientemente por Ali et al. (2018), quienes encontraron que semillas pequeñas y semillas con tegumento duro, fueron más resistentes al deterioro en el campo (“weathering”).

Como se mencionó anteriormente, si bien en los trabajos citados se caracterizó el efecto del tamaño de las semillas combinado con el momento de cosecha sobre atributos de CF, en general se han realizado pocas evaluaciones de los mismos luego de la MF. Por lo tanto, poco se sabe cómo es la evolución de dichos atributos en semillas de distinto tamaño a partir de MF, si esa evolución es diferente en condiciones ambientales contrastantes, si hay diferencias en el momento en que semillas de distinto tamaño ya no cumplen con los estándares de calidad comercial y si hay un momento desde MF hasta la cosecha efectiva en el cual semillas de distinto tamaño son menos susceptibles al deterioro por “weathering”. Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados, los objetivos de este trabajo fueron:

- Determinar cómo influye la fecha de siembra y el momento de la cosecha sobre la calidad fisiológica de la semilla de soja.
- Evaluar cómo varía la calidad fisiológica de semillas de soja con diferente tamaño, en función del tiempo transcurrido entre la madurez fisiológica (MF) y la madurez de cosecha (MC) y entre la MC y la cosecha efectiva (CO), en dos fechas de siembra contrastantes.
- Estimar, en función de las condiciones ambientales imperantes en pre-cosecha, el momento en el que las semillas de soja ya no cumplen con los estándares de calidad comercial.
- Determinar si hay un período, entre la MF y la CO, en el que las semillas son menos susceptibles al deterioro por “weathering”.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Material Vegetal

El material vegetal utilizado para el experimento desarrollado en esta Tesis, pertenece a la empresa Nidera Semillas. En una primera etapa se evaluaron cinco genotipos que diferían en tamaño y GM: NS 3220 STS, A 5009 RG, NS 5258, A 6126 RG y NS 6248 (Tabla 1). Las semillas fueron pasadas por una zaranda manual para homogenizar calibre y eliminar impurezas. A continuación, mediante una balanza electrónica (Mettler Toledo, Buenos Aires, Argentina) se obtuvo el peso de mil semillas (P1000).

**Tabla 1.** Características de los genotipos comerciales originalmente evaluados para el ensayo.

Genotipo	P1000 (g)	Humedad (%)
<b>NS<sup>1</sup> 3220 STS<sup>2</sup></b>	190	12,4
<b>A<sup>3</sup> 5009 RG<sup>4</sup></b>	195	12,0
<b>NS 5258</b>	172	12,6
<b>A 6126 RG</b>	126	12,7
<b>NS 6248</b>	175	13,6

<sup>1</sup> NS: Nidera Semillas.

<sup>2</sup> STS: Soja Tolerante a Sulfonilureas

<sup>3</sup> A: Asgrow.

<sup>4</sup> RG: Resistente a Glifosato

De este grupo de genotipos se seleccionaron aquellos que presentaban el mayor y el menor P1000 y GM similares (A 5009 RG y A 6126 RG, respectivamente) (Tabla 2). Como primera determinación y antes de la implantación del cultivo en el campo, se evaluó el Pg de ambos, siendo de 86 % para semilla grande (A 5009 RG) y 94 % para semilla pequeña (A 6126 RG).

**Tabla 2.** Características de los genotipos comerciales seleccionados para el ensayo de campo.

Genotipo	Grupo de madurez <sup>1</sup>	Habito de crecimiento	Color de flor	P 1000(g)
<b>A 5009 RG</b>	5.0	Indeterminado	Blanca	195
<b>A 6126 RG</b>	6.1	Determinado	Blanca	126

<sup>1</sup>Grupo de madurez relativo, Zhang et al. (2007)

De aquí en adelante los dos genotipos seleccionados A 5009 RG y A 6126 RG se denominarán 5009 y 6126, respectivamente, a los efectos de simplificar y facilitar la lectura.

## 2.2. Diseño experimental

El experimento desarrollado en este trabajo de Tesis se llevó a cabo durante la campaña 2017/18 en el sector de campo y en los laboratorios del LEFIVE, ubicados en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Santa Fe, Argentina (33°01' S, 60°52' O).

Con el objeto de generar condiciones ambientales contrastantes durante el período MF-CO para los dos genotipos seleccionados, se realizaron dos fechas de siembra (una temprana y la otra tardía, Tabla 3). En cada siembra, los dos genotipos se sembraron en parcelas de seis surcos de 5,5 m de largo, distanciados a 0,52 m. La densidad de siembra final fue de 20 plantas.m<sup>-2</sup>. Para lograr la densidad objetivo, las parcelas fueron sembradas al triple de la densidad y raleadas entre los estadios V2 y V3 (dos y tres hojas totalmente expandidas, respectivamente, Fehr y Caviness, 1977). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. Además, se empleó riego suplementario para evitar el déficit hídrico y se controlaron insectos, enfermedades y malezas durante todo el ciclo del cultivo. Desde la siembra, y de manera continua, se registraron: la temperatura media (T media, °C), la humedad relativa (HR, %) y las precipitaciones (mm). Además se calculó el déficit de presión de vapor atmosférico (DPV) usando la siguiente ecuación:

$$DPV = [(100 - HR)/100] * PVS \quad \text{Ec. [1]}$$

Siendo HR la humedad relativa y PVS la presión de vapor saturado.

Para la caracterización de los estadios fenológicos en el campo se utilizó la escala de Fehr y Caviness (1977).

**Tabla 3.** Fechas de los estadios fenológicos correspondientes a cada genotipo y fecha de siembra.

Estadios fenológicos <sup>1</sup>	FS1 <sup>2</sup>		FS2 <sup>3</sup>	
	A 5009 RG	A 6126 RG	A 5009 RG	A 6126 RG
<b>S</b>	30/11/2017	30/11/2017	04/01/2018	04/01/2018
<b>VE</b>	09/12/2017	09/12/2017	10/01/2018	10/01/2018
<b>R1</b>	19/01/2018	02/02/2018	19/02/2018	24/02/2018
<b>R5</b>	19/02/2018	01/03/2018	10/03/2018	16/03/2018
<b>R7</b>	26/03/2018	05/04/2018	14/04/2018	24/04/2018
<b>R8</b>	10/04/2018	20/04/2018	19/05/2018	24/05/2018

<sup>1</sup> S, VE, R1, R5, R7 y R8 corresponden a los estadios fenológicos siembra, emergencia, inicio de floración, inicio de llenado de semillas, inicio de madurez y plena madurez, respectivamente, según escala de Fehr y Caviness (1977).

<sup>2</sup> FS1, primera fecha de siembra.

<sup>3</sup> FS2, segunda fecha de siembra.

A partir de MF (R7) se realizaron muestreos periódicos cada 15 días hasta los 90 días posteriores a dicho estadio. Además, se realizó una caracterización adicional de los materiales a los 105 días posteriores a MF. En cada muestreo se cosecharon manualmente 400 vainas, tomadas al azar, dentro de cada parcela. Dichas vainas se utilizaron para llevar a cabo las determinaciones de laboratorio.

### 2.3. Determinaciones de laboratorio

La CF de las semillas de soja cosechadas, se midió a través de las siguientes variables:

*Porcentaje de humedad de la semilla (HS):* Se realizó con un medidor de humedad H-5 FARMPRO (Curitiba, Brasil), registrando el promedio de tres repeticiones por tratamiento, en aquellas semillas que contenían una HS del 25 % o menos. Para las semillas que superaban este valor, la HS se determinó por diferencia de peso. Para ello, se tomaron tres repeticiones de 50 semillas por tratamiento registrando el valor de peso húmedo, luego esas muestras se llevaron a estufa a 60 °C, durante cuatro días. Posteriormente se volvieron a pesar cada muestra obteniendo el valor de peso seco. Una vez registrado los dos valores se obtuvo el porcentaje de humedad de las semillas utilizando la siguiente ecuación:

$$HS = [(peso húmedo - peso seco)/peso húmedo] \times 100. \quad \text{Ec. [2]}$$

Para verificar que los datos obtenidos mediante esta última metodología correlacionaban con los obtenidos con el medidor de humedad, se tomó una muestra de algunos tratamientos con HS mayores al 25 % y se compararon ambas metodologías. Esta comparación corroboró que ambas metodologías arrojaban valores de HS similares ( $R^2 = 0,80$ ).

Prueba de Germinación Estándar (GE): Para esta prueba se empleó el método de siembra en papel (*Top Paper* - TP). Se realizaron cuatro repeticiones de 50 semillas para cada bloque, genotipo y fecha de siembra. Para cada repetición las semillas se distribuyeron uniformemente entre dos capas de papel (Wypall de 28 x 42 cm) previamente humedecidas a saturación con agua destilada. Luego se enrollaron las respectivas capas de papel conteniendo las semillas y se colocaron de forma vertical en una cámara de germinación a 25°C durante 7 días. Este ensayo permitió la observación directa y la cuantificación de las plántulas que evolucionaban mostrando estructuras intactas y equilibradas y las plántulas con defectos de distinta naturaleza. En la cuantificación se agruparon las plántulas como: plántulas normales (intactas, con defectos leves, con infección secundaria), plántulas anormales (dañadas, deformadas o desbalanceadas, podridas) y semillas no germinadas (duras, frescas y muertas) (Reglas ISTA, 2003).

Viabilidad por Tetrazolio (VTZ): Para esta determinación, inicialmente se hidrataron 50 semillas por tratamiento en recipientes con agua destilada durante 18 horas (acondicionamiento rápido), luego se sumergieron en una solución de sal 2,3-5 trifenil tetrazolio, de concentración equivalente a 0,1 % y se incubaron en oscuridad a 35°C durante 3 horas (Craviotto et al., 2011) para posteriormente evaluar cada una de las semillas (ISTA Working Sheets, 2003). El acondicionamiento rápido de las semillas es una modificación a lo sugerido por ISTA, 2003 y Craviotto et al., 2011 para la obtención de los resultados dentro de las 24 horas. Sumergiendo directamente las semillas secas en agua se logra una rápida hidratación de las semillas, esta práctica es poco recomendada ya que las semillas de soja son muy susceptibles a la hidratación rápida pudiendo provocar fisuras o fracturas conocidas como "cracking". El fisurado espontáneo de los tejidos surge como consecuencia a las fuerzas de tracción que se generan entre los tejidos con diferentes grados de humedad. Sin embargo el cracking se puede diferenciar ya que no presenta los signos característicos de un daño mecánico. Considerando que se realizó una cosecha manual (daño mecánico cero) esta modificación nos permitió obtener resultados en 24 horas sin alterar los niveles de VTZ y VigTZ. Luego de obtenida la coloración, se retiró el tegumento de cada

semilla, se observó interna y externamente el color, la homogeneidad de la coloración, la turgencia de los tejidos, se identificó la naturaleza de los daños, se observó localización, extensión y profundidad mediante sucesivos cortes transversales en las diferentes estructuras seminales. Es muy valioso saber los tipos de daños del ambiente, de chinche, mecánicos, fracturas o malformaciones genéticas que afectan la viabilidad y vigor del lote y determinan la ubicación de las semillas en cada nivel. Para cuantificar los daños se observa en detalle cada semilla analizando la superficie externa e interna de los cotiledones y del eje embrionario, para asignar un valor de viabilidad en función de la localización. En función de las partes o estructura esenciales de las semillas que se encuentren afectadas por distintos tipos de daños, mayor gravedad revestirá la situación y la semilla será clasificada como poseedora de un menor Nivel de Viabilidad. La zona de unión del eje embrionario con los cotiledones, denominada área proximal, es el lugar físico por donde circulan todos los asimilados acumulados en los cotiledones en dirección a los ápices terminales crecimiento de la radícula y plúmula durante el proceso de germinación. En esta zona se hallan ubicados los puntos o áreas de inserción de los dos cotiledones con el eje embrionario. De esta manera los daños ubicados en el extremo opuesto a la zona o área de unión, denominada área distal, revisten una importancia menor en la medida en que se alejan de la parte media del cotiledón. El color que adquiere la semilla nos indica la actividad respiratoria de los diferentes tejidos y como consecuencia el estado de vitalidad de dichas estructuras. Los colores que se presentan en las semillas se pueden atribuir a distintos estados fisiológicos: Blanco brillante (tejido sano y vigoroso), rosa pálido (tejido sano y vigoroso), rojo intenso (tejido en proceso de deterioro), blanco mate (tejido muerto) y verde (tejido inmaduro). Los datos luego se volcaron a una planilla la cual poseía 5 columnas representativas de los 5 niveles de viabilidad, con gráficos de semillas individuales para consignar los daños presentes en cada una. Los 5 niveles o categorías se identifican como: Nivel 1 (viables sin defectos), nivel 2 (viables defectos leves), nivel 3 (viables defectos moderados), nivel 4 (viables defectos severos) y nivel 5 (no viables). Una vez caracterizados los daños, el valor que expresa el número de semillas viables se obtuvo de la suma de los niveles 1 a 4 inclusive. Del número obtenido se calculó el porcentaje sobre el total de la muestra.

Vigor (Vig): La determinación de esta variable se realizó mediante tres pruebas diferentes:

a) La primera consistió en el método de **envejecimiento acelerado** (VigEA). Mediante esta prueba se sometieron a las semillas a condiciones adversas de temperatura y humedad relativa, en cortos periodo de tiempo

sufriendo un severo estrés. Para realizar esta prueba se colocaron 50 semillas de cada tratamiento sobre una cesta cribada dispuesta sobre soportes en una minicámara o caja plástica (CEREALTOOLS, Rosario, Argentina) con agua en su interior. Dentro de dicho microambiente se alcanza una humedad relativa superior al 95 % en una condición de alta temperatura 42 °C. La lenta hidratación y la gran actividad respiratoria provocada por la temperatura elevada dan origen a un proceso de envejecimiento acelerado de las semillas de la muestra. Luego de un periodo de 48 horas bajo este tipo de estrés se evaluó el deterioro de las semillas a través de la prueba de germinación estándar (descrita previamente), clasificando a las plántulas como normales, anormales, semillas frescas, semillas muertas y duras (ISTA, 2015). El resultado de la prueba consiste en determinar el porcentaje de plántulas normales obtenidas luego del tratamiento. Los lotes que muestran mayor porcentaje de plántulas normales (> 80%) se clasifican como vigorosos.

b) La segunda prueba se realizó determinando la **conductividad eléctrica** (VigCE) individual de cada semilla con el objeto de estimar la integridad de sus membranas celulares y su estado de deterioro. Esta prueba arroja valores estimados y utiliza la gran facilidad que tiene la especie soja para liberar electrolitos al medio acuoso en el comienzo del proceso de imbibición. Estos iones son liberados por las semillas desde su interior y son reveladores del estado de los tejidos y estructuras seminales. En términos generales se puede establecer que a mayor nivel de calidad del lote de semillas, menor es la liberación de sustancias por parte de las semillas sumergidas en agua destilada. La conductividad eléctrica (CE) se determinó utilizando un analizador automático de semillas SAD 9000-S con N° de serie 4010, desarrollado por la empresa Consultar SRL, Rosario, Argentina. El equipo está compuesto por un dosificador, una bomba, un cabezal multi-electrodo con 100 pares de electrodos, una bandeja con 100 celdas y una computadora con un programa que permite la medición de la lixiviación de electrolitos por parte de las semillas individuales (INTA, 1997). La prueba de vigor se hizo con una muestra de 100 semillas por tratamiento, colocadas individualmente en cada celda de la bandeja conteniendo agua destilada. Cada bandeja con las semillas se llevó a la cámara de germinación a 23 °C por un período de 24 h. Pasado este tiempo, se retiraron las semillas y se procedió a la determinación de la CE. Valores de mayor CE indicaban mayor liberación de solutos de bajo peso molecular a la solución indicando que las semillas presentaban menor vigor (INTA, 1997). Esta prueba arroja además valores estimados de Pg.

c) La tercera prueba se realizó mediante la técnica de tetrazolio (TZ). Teniendo en cuenta los tipos de daño, la localización y la profundidad de los mismos y a partir de la clasificación citada en el apartado VTZ, se estimó el porcentaje de vigor de las semillas. Para determinar el vigor de las semillas evaluadas en la prueba de viabilidad por Tetrazolio se consideran a las semillas clasificadas como viables sin defectos (nivel 1) como de alto vigor, a las semillas viables defectos leves (nivel 2) como de vigor medio y las viables defectos moderados (nivel 3) como de bajo vigor. Las semillas consideradas como viables defectos severos (nivel 4) no se computan dentro del vigor. De la misma manera que en viabilidad el porcentaje se obtiene sobre el total de semillas de la muestra analizada.

Los valores umbrales que se tomaron para las variables analizadas fueron: 80 % para Vig (Egli y TeKrony, 1995), 80 % para Pg (INASE, 2003) y 90 % para V (Craviotto et al., 2011).

#### 2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza (ANAVA). Previo a la realización del ANAVA se comprobó el cumplimiento de los supuestos del mismo. Para ello se ajustó un modelo lineal mixto en el que se consideraron la fecha de siembra, genotipo y momento de cosecha y sus interacciones como factores fijos y bloque como factor aleatorio. Para las estimaciones se utilizó el método de estimación de máxima verosimilitud restringida (REML). El modelo lineal utilizado se muestra a continuación:

$$Y_{ijkl} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde  $Y_{ijkl}$  es la variable respuesta,  $\mu$  es la media general,  $\rho_i$  es el efecto de bloque,  $\alpha_j$  es el efecto del genotipo,  $\beta_k$  es el efecto de la fecha de siembra,  $\gamma_l$  es el efecto del momento de cosecha,  $(\alpha\beta)_{jk}$  es el efecto de la interacción genotipo\*fecha de siembra,  $(\alpha\gamma)_{jl}$  es el efecto de la interacción genotipo\*momento de cosecha,  $(\beta\gamma)_{kl}$  es el efecto de la interacción fecha de siembra\*momento de cosecha,  $(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$  es el efecto de la interacción genotipo\*fecha de siembra\*momento de cosecha y  $\varepsilon_{ijkl}$  es el efecto residual.

Todas las variables analizadas presentaron homogeneidad de varianzas. En relación a la distribución de los residuos, todas las variables presentaron distribución normal, (PgGE, PgCE, VigEA, VigCE y VigTZ), excepto HS y VTZ. Para éstas dos últimas variables los datos se transformaron de tal manera que

siguieran una distribución normal. En el caso de VTZ, se utilizó la transformación arcsen ( $\sqrt{(\%/100)}$ ) y para HS, se utilizó  $\sqrt{x}$ .

Teniendo en cuenta que los distintos muestreos se realizaron sobre la misma unidad experimental (parcela), podría existir correlación residual entre las observaciones. Es por ello, que se decidió modelar dicha correlación temporal combinando distintas estructuras de correlación residual (simetría compuesta, sin estructura y autorregresivo continuo de orden 1). Mediante el criterio de verosimilitud penalizada Akaike (AIC) se eligió el modelo que mejor describía los datos, y usando este modelo se realizaron inferencias acerca de las medias mediante el análisis de mínimas diferencias significativas (LSD;  $\alpha < 0,05$ ). Por otra parte, para verificar la existencia de efectos principales de los distintos factores y sus interacciones se utilizó la prueba de Wald.

Las estructuras de correlación elegidas para las distintas variables fueron: sin estructura para PgGE, HS y PgCE, errores independientes para VigEA, VigCE y VTZ y simetría compuesta para VigTZ.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo et al., 2019).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, el retraso en la cosecha causó un deterioro en la CF de las semillas en los dos genotipos caracterizados y en ambas fechas de siembra. Estos resultados concuerdan con los informados por Green et al. (1966), Bauer et al. (2003) y Andrews (2016), quienes registraron el efecto adverso de la exposición al deterioro en el campo sobre la calidad de las semillas. No obstante, el comportamiento de los genotipos para cada una de las variables evaluadas difirió significativamente en función de la fecha de siembra y el momento de la cosecha (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis de la varianza de las variables caracterizadas en el ensayo: humedad de la semilla (HS), prueba de germinación estándar (PgGE), poder germinativo por conductividad eléctrica (PgCE), Vigor por envejecimiento acelerado (VigEA), Vigor por conductividad eléctrica (VigCE), Vigor por tetrazolio (VigTZ) y Viabilidad por tetrazolio (VTZ), para cada fecha de siembra (FS), genotipo (G) y momento de cosecha (CO), y sus respectivas interacciones.

ANAVA <sup>1</sup>	HS	PgGE	PgCE	VigEA	VigCE	VigTZ	VTZ
FS <sup>2</sup>	**** <sup>5</sup>	****	****	****	****	****	*
G <sup>3</sup>	****	****	****	****	****	****	****
CO <sup>4</sup>	****	****	****	****	****	****	****
FS x G	****	ns <sup>6</sup>	ns	**	Ns	****	****
FS x CO	****	****	****	****	****	****	****
G x CO	****	****	****	****	****	****	****
FS x G x CO	****	****	****	****	****	****	***

<sup>1</sup> ANAVA: Análisis de la Varianza.

<sup>2</sup> FS: Fecha de Siembra.

<sup>3</sup> G: Genotipo.

<sup>4</sup> CO: Momento de Cosecha.

<sup>5</sup> \*, \*\*, \*\*\* y \*\*\*\* indican diferencias significativas a los niveles de probabilidad de 0,05; 0,01; 0,001 y 0,0001, respectivamente.

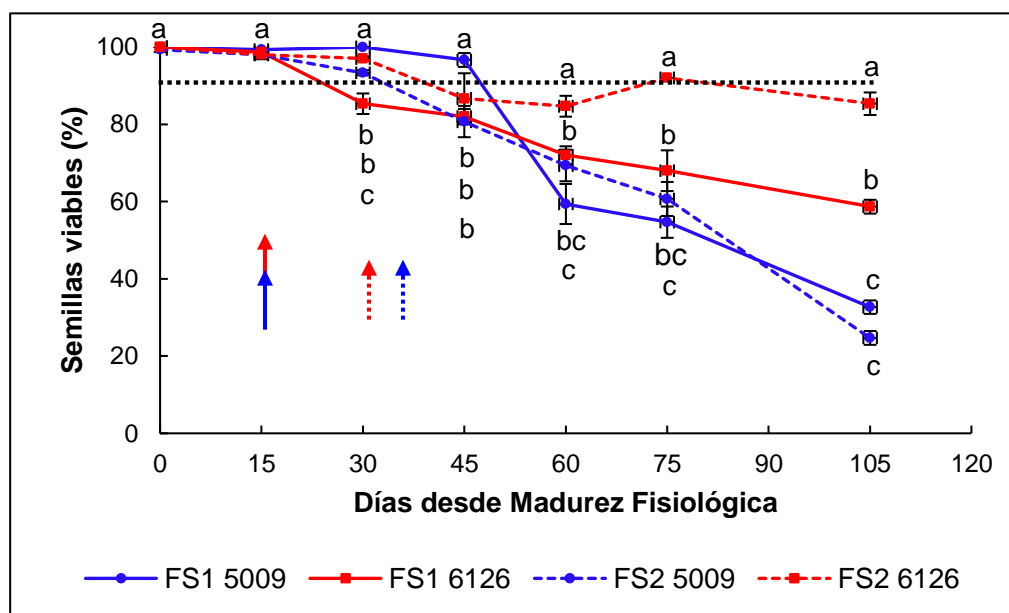
<sup>6</sup> ns: indica diferencias no significativas.

Para todas las variables analizadas, el genotipo 6126 (semillas pequeñas) sembrado en la FS2, fue el que mostró los mayores valores de CF y menor velocidad de deterioro durante el período caracterizado. Por el contrario, el genotipo 5009 (semillas grandes), sembrado en la FS1, mostró un rápido deterioro de su CF desde las primeras etapas de evaluación (Figura 1; Figura 2A y 2B y Figura 3A, 3B y 3C).

Uno de los primeros atributos de CF que es imprescindible conocer y que es de gran utilidad a la hora de decidir que lotes de semilla se usarán para la siembra es el de viabilidad (V), ya que es un buen indicador del estado físico y fisiológico de las semillas del lote (Craviotto et al., 2011). En este ensayo los

mayores valores de Viabilidad por Tetrazolio (VTZ) se observaron entre MF y MC, no encontrándose diferencias significativas entre genotipos en ambas FS (Figura 1). El hecho que la V promedio se mantuviera con valores altos y similares durante el período MF-MC (99,5 % para ambos genotipos en la FS1 y 96,9 y 98,3 % para 5009 y 6126, respectivamente, en la FS 2) (Figura 1) difiere tanto de investigaciones previas que postulan que la máxima CF de la semilla se alcanza en MF (Tekrony et al., 1980; Marcos-Filho, 2005; Carvajal et al., 2018) como de las que sostienen que la máxima CF se obtiene en MC (Ellis et al., 1987; Zanakis et al., 1993 y 1994).

Los valores de VTZ se mantuvieron altos en los cuatro tratamientos hasta un período de entre 30-45 días desde madurez fisiológica (DDMF; Figura 1), momento a partir del cual, las diferencias entre los mismos se manifestaron con mayor intensidad, presentando el genotipo de semilla pequeña en la FS2 los mayores valores de VTZ y el genotipo de semilla grande en ambas fechas de siembra los menores valores. Por otra parte, para los dos genotipos caracterizados se observó que la caída en los valores de VTZ se produjo en momentos similares dependiendo de la fecha de siembra. En la FS1, la mayor caída en los valores de VTZ se registró entre los 45 y 60 DDMF para el genotipo 5009, mientras que para el genotipo 6126 se observaron dos caídas: entre los 15 y 30 DDMF y entre los 45 y 60 DDMF. En la FS2, en ambos genotipos la caída en este atributo se observó entre los 30 y 45 DDMF (Figura 1). Al final del período de evaluación (105 DDMF) los menores valores de VTZ se registraron en el genotipo 5009 en ambas FS, difiriendo significativamente del genotipo 6126 ( $P < 0,05$ ; Figura 1). Además, el genotipo de semillas pequeñas mostró diferencias significativas entre las FS1 y FS2 a partir de los 60 DDMF. Sorprendentemente, el genotipo de semillas pequeñas sembrado en la FS2 fue el único tratamiento que mantuvo valores de VTZ cercanos al umbral (90 %) durante todo el período de evaluación (105 días) (Fig. 1).



**Figura 1.** Viabilidad por Tetrazolio (% de semillas viables) en función de los Días Desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es menor que el tamaño del símbolo. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (90 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha, según LSD ( $P < 0,05$ ). Las flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

Otro de los atributos de CF de gran importancia y que es imprescindible considerar si se pretende comercializar un lote de semilla como fiscalizada es el Poder Germinativo (Pg).

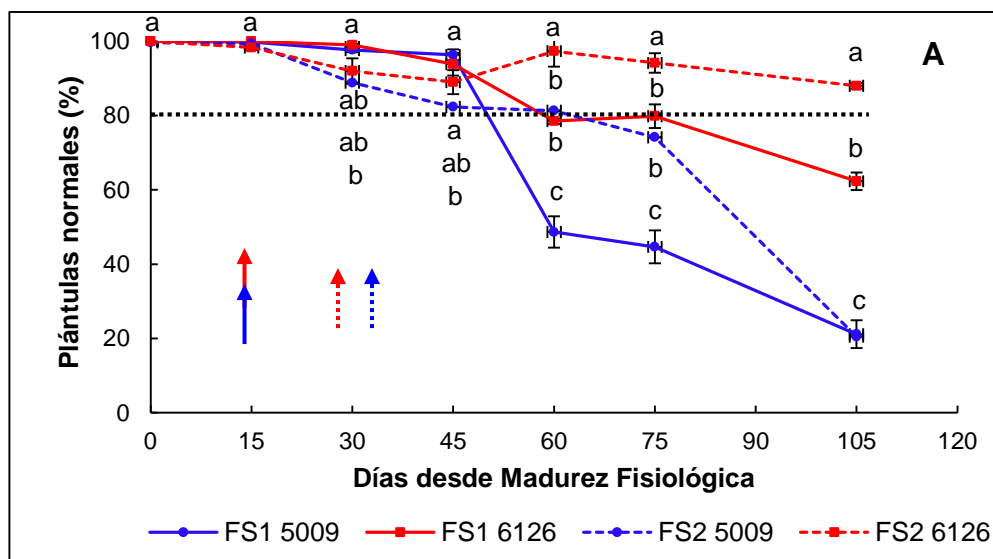
La prueba de germinación estándar (GE) indica el grado en que las semillas del lote son aptas para germinar y producir plántulas normales en condiciones óptimas (Craviotto et al., 2011). En relación a éste atributo, el comportamiento de los genotipos en las dos FS fue similar al de V. Los mayores valores de PgGE se registraron entre MF y MC. El valor de PgGE se mantuvo elevado ( $> 80\%$ ) hasta los 45 DDMF en todos los tratamientos, momento a partir del cual aumentaron las diferencias entre los mismos (Figura 2A). Desde los 60 DDMF y durante el resto del período evaluado el genotipo 5009 sembrado en la FS1 presentó los menores valores para esta variable y el genotipo 6126 sembrado en la FS2, los mayores. Los otros dos tratamientos mostraron valores intermedios. Al final del período de evaluación (105 DDMF), el genotipo 5009 sembrado en ambas FS presentó los

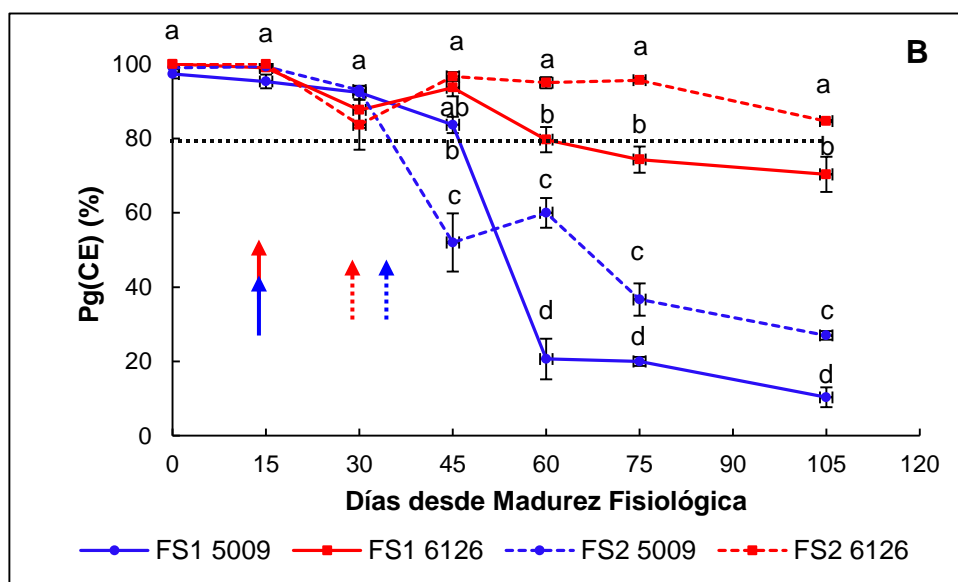
valores más bajos de PgGE, seguido por el genotipo 6126 sembrado en la FS1, y finalmente por ese mismo genotipo sembrado en la FS2 (Figura 2A, Foto 1). Éste último tratamiento mantuvo valores de PgGE por encima del umbral (80 %) durante todo el período de evaluación (105 DDMF).

Por otra parte, al igual que lo ocurrido con VTZ, para los dos genotipos caracterizados se observó que las caídas en los valores de PgGE ocurrieron en momentos similares dependiendo de la fecha de siembra. Mientras que en la FS1, la mayor caída se registró entre los 45 y 60 DDMF; en la FS2 se observó una caída anticipada en este atributo a partir de los 30 DDMF (Figura 2A).

La caracterización del Pg de las semillas se realizó además a través de la prueba de conductividad eléctrica (PgCE). Los resultados obtenidos a partir de este análisis fueron similares a los registrados por la prueba de GE, sólo que las diferencias entre tratamientos comenzaron a observarse a partir de los 45 DDMF (Figura 2B).

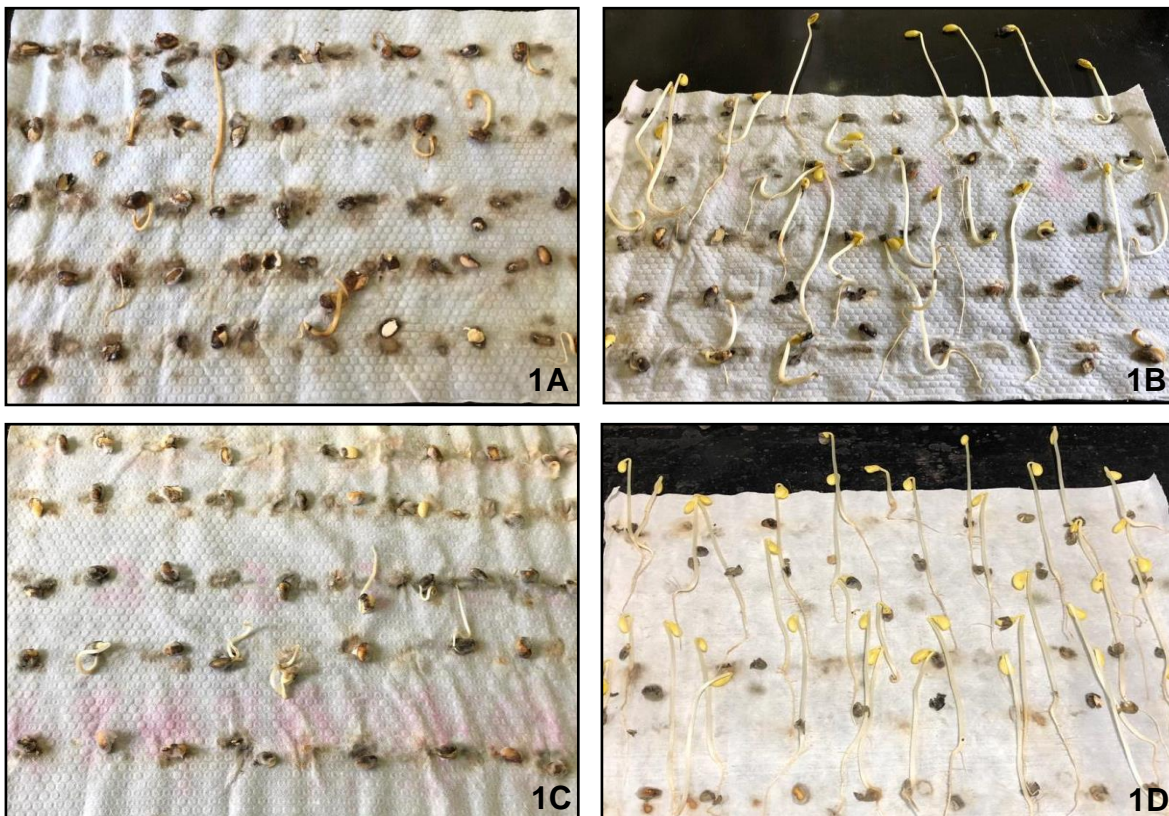
Por medio del análisis correlación de Pearson se corroboró el grado de asociación que existía entre las dos metodologías utilizadas para caracterizar el Pg (CE y GE), encontrándose valores elevados para dicha asociación ( $r = 0,90$ ;  $P < 0,001$ ). El hecho de que ambas metodologías presenten valores similares resalta la ventaja principal que presenta el análisis de CE, con el cual es posible obtener valores orientativos de la CF de las semillas en 24 h (Craviotto et al., 2011).





**Figura 2.** Poder Germinativo por Prueba de Germinación Estándar (% de plántulas normales; 2A) y por Conductividad Eléctrica (% estimado de poder germinativo; 2B), en función de los Días desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es menor que el tamaño del símbolo. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (80 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha según LSD ( $P < 0,05$ ). Las flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

En las fotos que se muestran a continuación se puede notar claramente las diferencias en el porcentaje de plántulas normales caracterizadas por la prueba de GE para los distintos tratamientos a los 105 DDMF. Las fotos 1A y 1C corresponden al genotipo 5009. En las mismas se puede observar una mayor cantidad de semillas muertas, con presencia de hongos y plántulas anormales, mostrando un bajo potencial para continuar desarrollándose en plantas aceptables cuando crecen bajo condiciones óptimas. En cambio en las fotos 1B y 1C (genotipo 6126) se observan mayormente plántulas normales, con potencial para continuar desarrollándose en plantas aceptables bajo condiciones óptimas; y en menor medida plántulas anormales y semillas muertas que concuerdan con los resultados descritos previamente.



**Foto 1.** Prueba de Germinación Estándar para los genotipos 5009 y 6126 en la fecha de siembra 1 (1A y 1B, respectivamente) y fecha de siembra 2 (1C y 1D, respectivamente), correspondientes al muestreo tomado a los 105 días desde la madurez fisiológica.

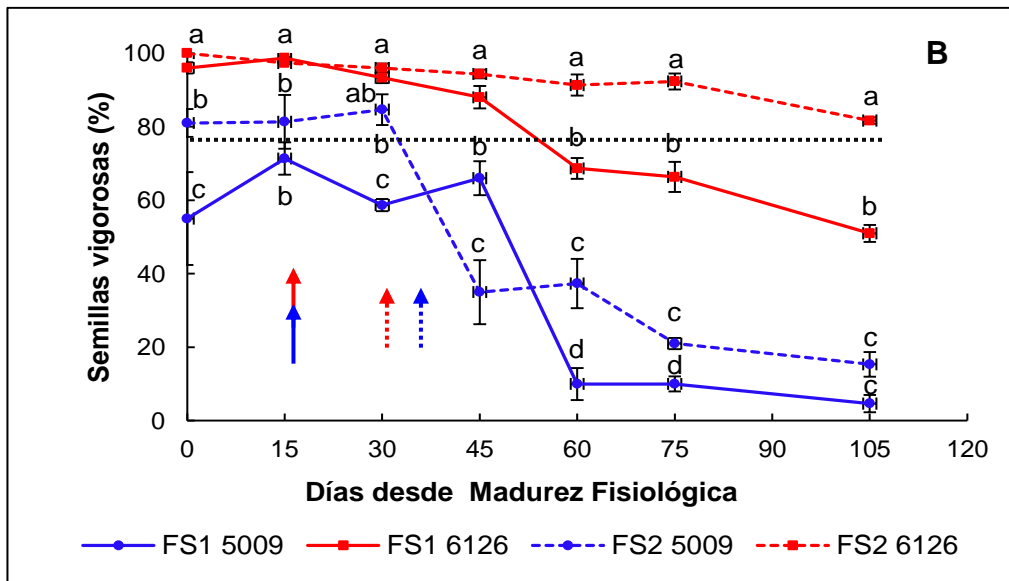
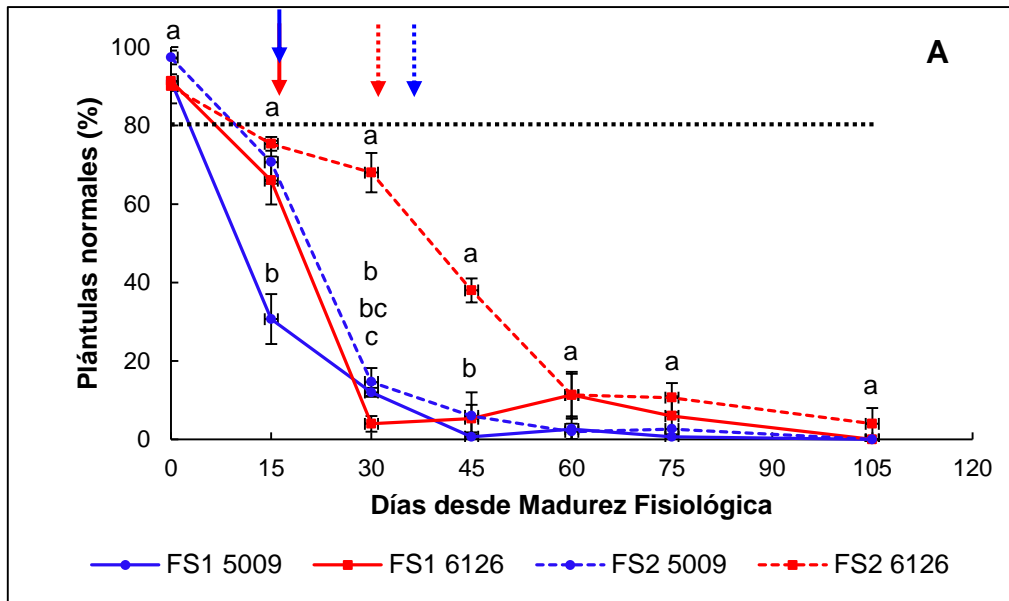
Por lo general, el primer componente de calidad que muestra señales de deterioro es el vigor de las semillas, seguido por una reducción en la germinación o en la producción de plántulas normales, y finalmente por la muerte de las semillas (Ferguson, 1995). En el presente trabajo se observó que la variable VigEA fue la más afectada, encontrándose diferencias significativas entre tratamientos a partir de los 15 DDMF (Figura 3A). Tal como se citara anteriormente, el genotipo 6126 en la FS2 mostró los mayores valores de vigor, manteniéndose con valores cercanos a los aceptables hasta los 30 DDMF. Por el contrario, el genotipo 5009 en la FS1, mostró una rápida disminución del vigor a partir de los 15 DDMF, con valores que se presentaron muy por debajo del umbral establecido para esta variable (80 %). En relación a los otros dos tratamientos (5009-FS2 y 6126-FS1), presentaron valores intermedios de VigEA. A diferencia de las variables caracterizadas anteriormente, si bien el genotipo 6126 sembrado en la FS2, presentó mayores valores de vigor hasta los 45 DDMF, difiriendo significativamente de los otros tres tratamientos ( $P < 0,05$ ). Pasado este momento, y hasta el final de la evaluación, no se detectaron diferencias entre genotipos y FS (Figura 3A).

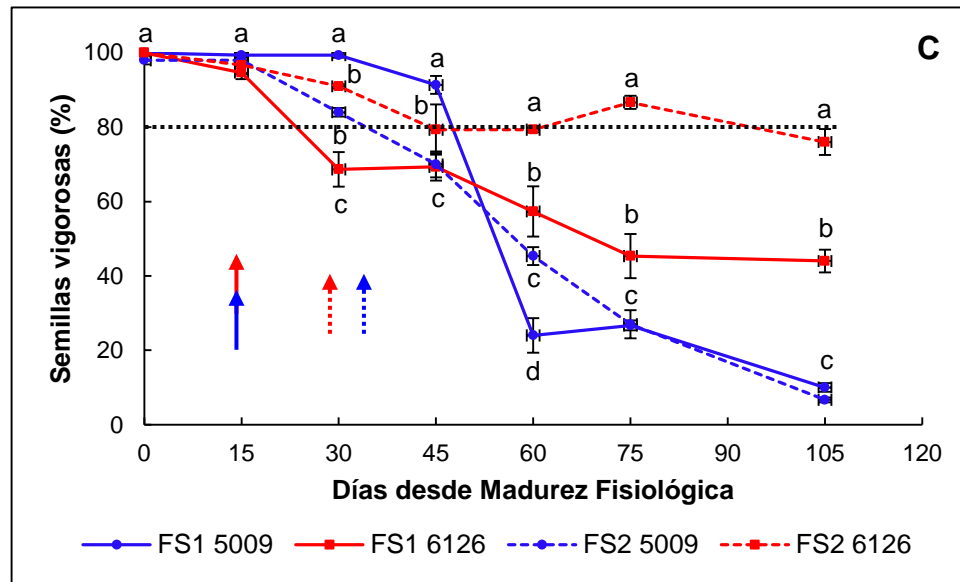
La rápida disminución en el vigor reportado en este estudio, demuestra la importancia de utilizar esta variable como medida complementaria a la prueba de germinación estándar, para poder prever con anticipación como se comportarán las semillas en condiciones de campo.

El vigor fue caracterizado además a través de las pruebas de conductividad eléctrica y tetrazolio. En comparación con la metodología descrita en el párrafo anterior (VigEA), estos dos análisis mostraron mayores valores de vigor en la primera etapa de evaluación.

Similar a lo ocurrido con las variables de VTZ y PgGE, para la FS1 la mayor caída en los valores de VigCE se observó entre los 45 y 60 DDMF. Sin embargo, el genotipo 5009 mostró desde el inicio de la evaluación valores de vigor por debajo del umbral establecido para esta variable (80 %). Para la FS2, mientras que el genotipo 5009 mostró una marcada caída en los valores de VigCE entre los 30 y 45 DDMF, el genotipo 6126 mantuvo valores superiores al umbral durante todo el período de evaluación (105 días, Figura 3B). En el caso de la variable VigTZ, la misma mostró un comportamiento similar a la variable caracterizada anteriormente. En la FS1 los valores de VigTZ se mantuvieron elevados en el genotipo 5009 hasta los 45 DDMF, momento a partir del cual se observó una importante caída en los mismos. En cambio, para el genotipo 6126 se registraron dos caídas en los valores de VigTZ, una entre los 15 y los 30 DDMF y la otra entre los 45 y 60 DDMF (Figura 3C). En la FS2, ambos genotipos mantuvieron valores de VigTZ por encima del umbral (> 80 %) hasta los 30 DDMF. Sin embargo, mientras que el genotipo 6126 se mantuvo con valores próximos al umbral durante todo el ensayo, el genotipo 5009 cayó de manera constante, luego de los 30 DDMF, hasta llegar a un mínimo de 7 % a los 105 DDMF (Figura 3C).

Por otro lado, estas dos pruebas permitieron diferenciar claramente las semillas pequeñas de las grandes, siendo éstas últimas las que mostraron menores valores de vigor a partir de los 60 DDMF. A su vez, para el genotipo de semilla pequeña, hubo una clara diferenciación entre las dos FS, observándose un mejor comportamiento en la FS2, fecha que mostró valores aceptables de CF durante todo el período de evaluación (105 DDMF) en ambas metodologías empleadas (Figura 3B y 3C).



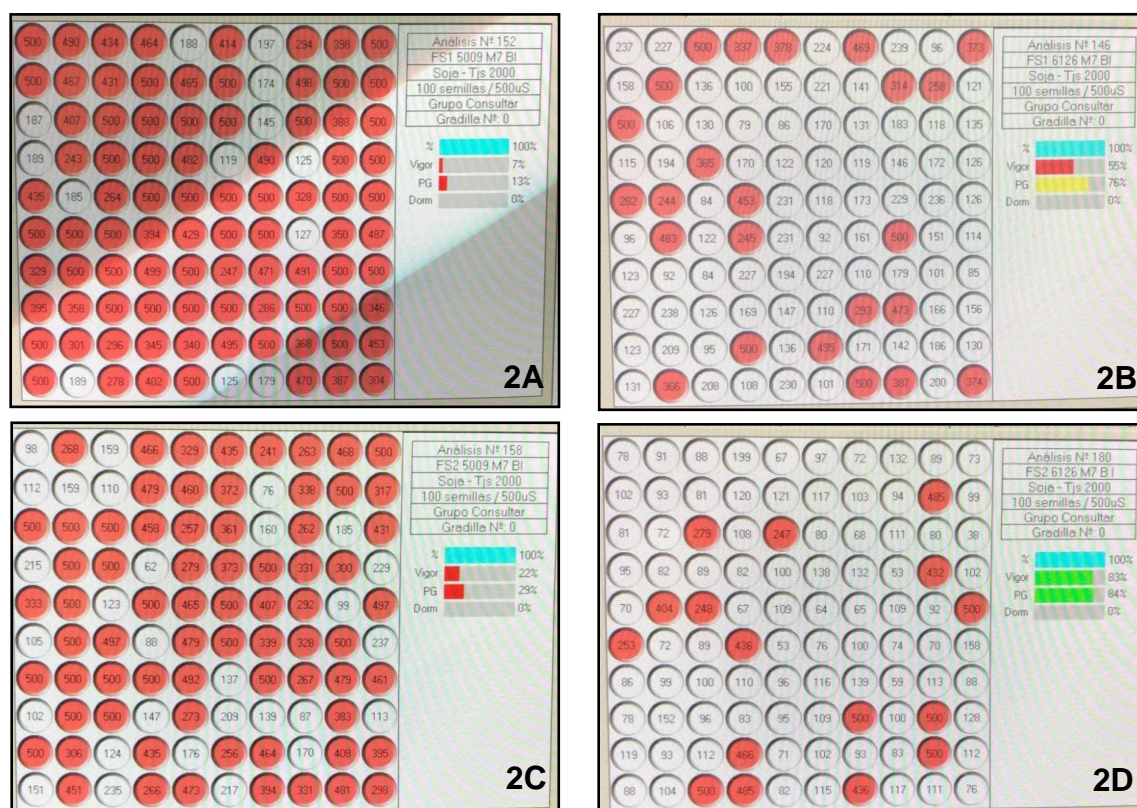


**Figura 3.** Vigor por Envejecimiento Acelerado (% plántulas normales; 3A), Vigor por Conductividad Eléctrica (% de semillas vigorosas; 3B) y Vigor por Tetratzolio (% de semillas vigorosas; 3C) en función de los Días desde Madurez Fisiológica, para los genotipos 5009 (semillas grandes, líneas azules) y 6126 (semillas pequeñas, líneas rojas). Para ambos genotipos la línea continua representa la primera fecha de siembra (FS1) y la línea discontinua la segunda fecha de siembra (FS2). Para cada punto, las líneas verticales representan el error estándar de la media. Cuando dichas líneas no se ven es porque el error estándar es muy pequeño. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para la variable caracterizada (80 %). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, dentro de cada momento de cosecha según LSD ( $P < 0,05$ ). Las flechas indican la Madurez Comercial (MC) para el genotipo 5009 (azul) y 6126 (roja), sembrados en las fechas de siembra 1 (flechas enteras) y 2 (flechas punteadas).

Tanto la prueba de VigCE como la de VigTZ, son medidas que complementan la prueba de VigEA. Si bien los valores de VigCE y VigTZ presentaron un alto grado de correlación entre sí ( $r = 0,80$ ;  $P < 0,0001$ ), cuando se las relacionó con VigEA el grado de correlación fue mucho menor ( $r = 0,61$ ;  $P < 0,0001$  y  $r = 0,52$ ;  $P < 0,0001$ , para VigTZ y VigCE, respectivamente). Posiblemente estas diferencias se deban a que la prueba de VigEA, es de las tres la de mayor exigencia, en la que se expone a las semillas a condiciones extremas de temperatura y humedad, favoreciendo al deterioro rápido de las mismas. Pese a las diferencias en la metodología utilizada, las tres mostraron en general patrones similares de deterioro para los distintos tratamientos caracterizados.

Como se citara anteriormente, una de las principales ventajas de la realización de la prueba de CE es que permite una rápida interpretación de los resultados. Además, es una metodología que permite caracterizar en forma indirecta el grado de integridad que presentan las membranas. Los resultados

obtenidos en este ensayo pusieron en evidencia diferencias en la integridad de las membranas entre los distintos tratamientos caracterizados. El genotipo de semilla grande (5009) sembrado en la FS1 fue el que presentó mayores daños en sus membranas, lo que puede haber demorado la reparación de las mismas liberando más electrolitos al medio y generando menores valores de PgCE y de VigCE. En cambio, en el genotipo de semilla pequeña (6126) sembrado en la FS2, al presentar un nivel de daño menor, la reparación de las membranas debe haber sido más rápida, lixiviando menos electrolitos al medio, y mostrando finalmente los mayores valores de PgCE y de VigCE (Foto 2).



**Foto 2.** Imágenes por pantalla de la PC de análisis de CE del SAD 9000-S donde se muestran los valores de una medición de CE en cada una de las celdas en los distintos tratamientos y valores estimados de Vigor y Poder Germinativo para los genotipos 5009 y 6126 sembrados en la fecha de siembra 1 (2A y 2B, respectivamente) y fecha de siembra 2 (2C y 2D, respectivamente), correspondientes al muestreo realizado a los 105 días desde la madurez fisiológica.

Una de las principales limitaciones que presentan tanto prueba de CE como la de germinación estándar, es que no permiten identificar las causas que producen el deterioro de las semillas. Y es en este punto donde la prueba de tetrazolio adquiere gran importancia en el esclarecimiento del tipo de daño que presentan las semillas (Salinas et al., 2001).

La Tabla 5 se muestran los distintos tipos de daño que se registraron a partir de la prueba de tetrazolio, en los dos genotipos caracterizados en ambas FS y para los distintos momentos de cosecha. Para los cuatro tratamientos se registraron altos porcentajes de daño ambiental (Foto 3). Estos daños se incrementaron a partir de los 45 DDMF en el genotipo de semilla grande sembrado en la FS1; y a partir de los 30 DDMF en los otros tres tratamientos (semilla grande en la FS2 y semilla pequeña en ambas FS). Por otra parte, tal como se observó en las distintas pruebas en las que se evaluó la CF de las semillas, el genotipo de semilla pequeña sembrado en la FS2, fue el que registró los menores porcentajes de daño ambiental. A partir de esta caracterización se pudo corroborar que la caída en los distintos atributos de CF evaluados, estuvo relacionada con las condiciones ambientales presentes en el período de MF-cosecha. En general, el daño ambiental es uno de los factores que más afecta a las semillas durante el período mencionado, manifestándose sus efectos sobre la viabilidad, germinación y vigor de las mismas (Mohan y Ram, 2005).

Respecto de los factores bióticos, un efecto importante sobre la CF de la semilla es el producido por insectos picadores-suctores (colectivamente referidos como daño por chinches). En este ensayo los daños por chinches fueron bajos, excepto para el genotipo 6126 a los 30 DDMF en la FS1, que presentó un 29 % de daño debido a que coincidió con un periodo de lluvia e inestabilidad en cual no se pudo pulverizar para su control (Tabla 5). Este ataque puntual podría explicar la caída inusual en las variables Viabilidad y Vigor por Tetrazolio registrada a los 30 DDMF en dicho genotipo sembrado en la FS1 (Figura 1 y 3C). En relación al daño por enfermedades fúngicas de fin de ciclo, el mismo fue bajo ya que dichas enfermedades fueron controladas efectivamente con aplicaciones de fungicidas durante todo el ciclo del cultivo. Además, no hubo daños mecánicos debido a que la cosecha se realizó manualmente y los daños por fractura fueron bajos, mayormente en los últimos muestreos posiblemente causados por un mayor deterioro del tegumento (Tabla 5).

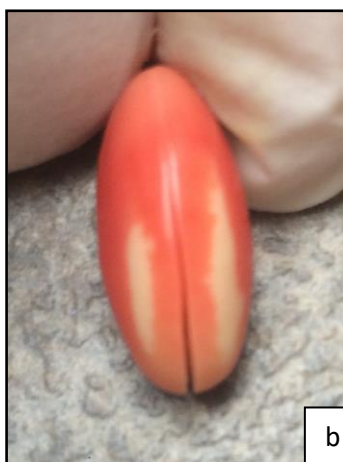
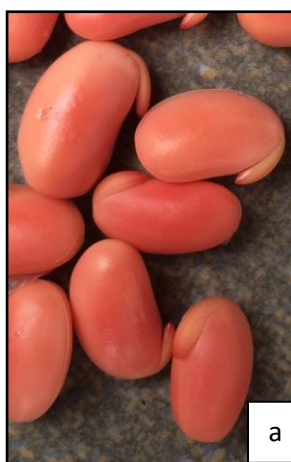
**Tabla 5.** Descripción de los daños (expresados en %) identificados por la Prueba de Tetrazolio en los dos genotipos 5009 (semilla grande) y 6126 (semilla pequeña), en las dos fechas de siembra y en los diferentes momentos de medición (DDMF).

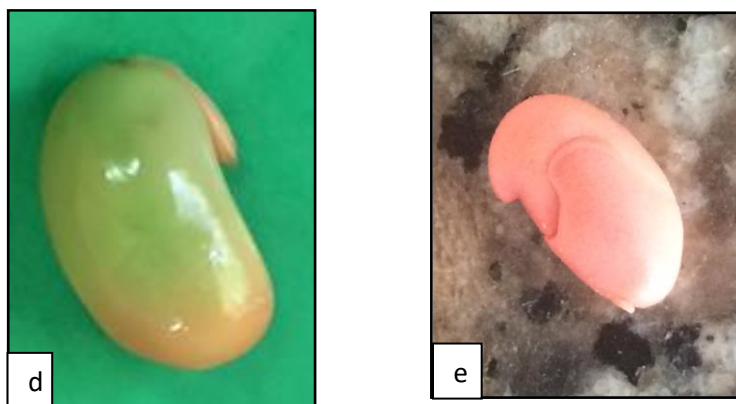
Fecha de Siembra 1									
DDMF	5009				6126				
	Tipo de daño (%)				Tipo de daño (%)				
	Ambiental	Chinche	Fractura	Otros	Ambiental	Chinche	Fractura	Otros	
0	0	0	0	0	4	0	0	0	
15	33	0	0	0	13	0	0	0	
30	28	0	0	0	90	29	0	0	
45	64	0	0	0	87	5	1	1	
60	100	13	0	0	91	7	0	0	
75	98	3	0	0	99	2	0	0	
105	100	0	3	0	100	11	1	1	

Fecha de Siembra 2									
DDMF	5009				6126				
	Tipo de daño (%)				Tipo de daño (%)				
	Ambiental	Chinche	Fractura	Otros	Ambiental	Chinche	Fractura	Otros	
0	10	0	0	1	1	0	0	6	
15	12	0	0	0	13	11	0	5	
30	51	1	0	0	46	5	0	1	
45	83	7	0	0	37	1	0	3	
60	99	9	0	1	51	2	0	1	
75	97	7	0	1	40	1	1	0	
105	100	6	0	0	73	7	0	2	

<sup>1</sup>DDMF: Días desde madurez fisiológica.

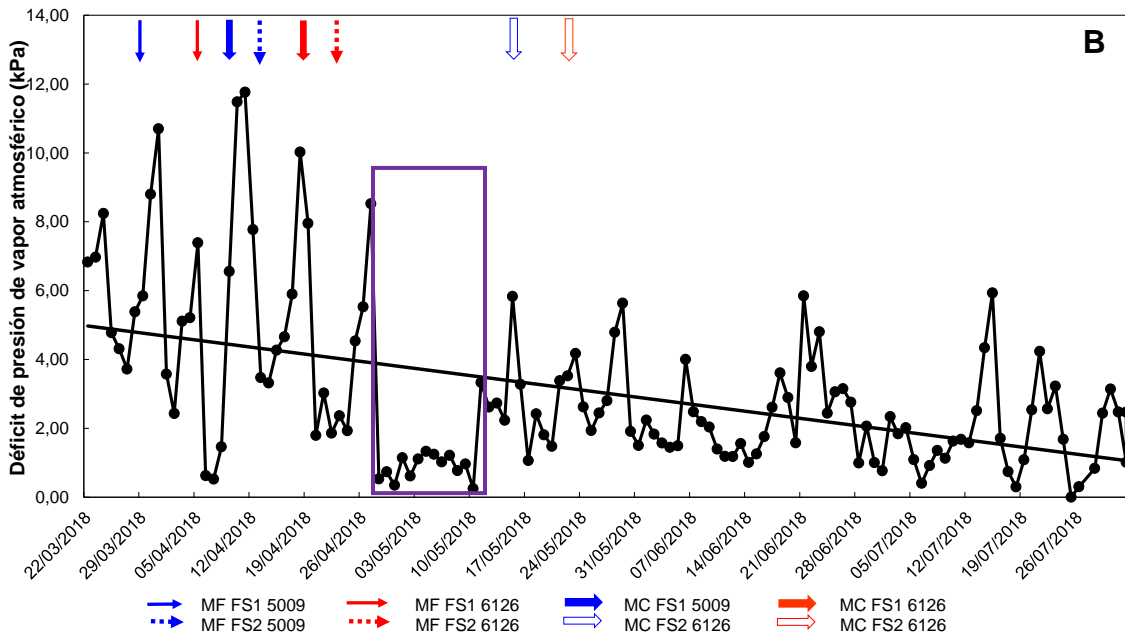
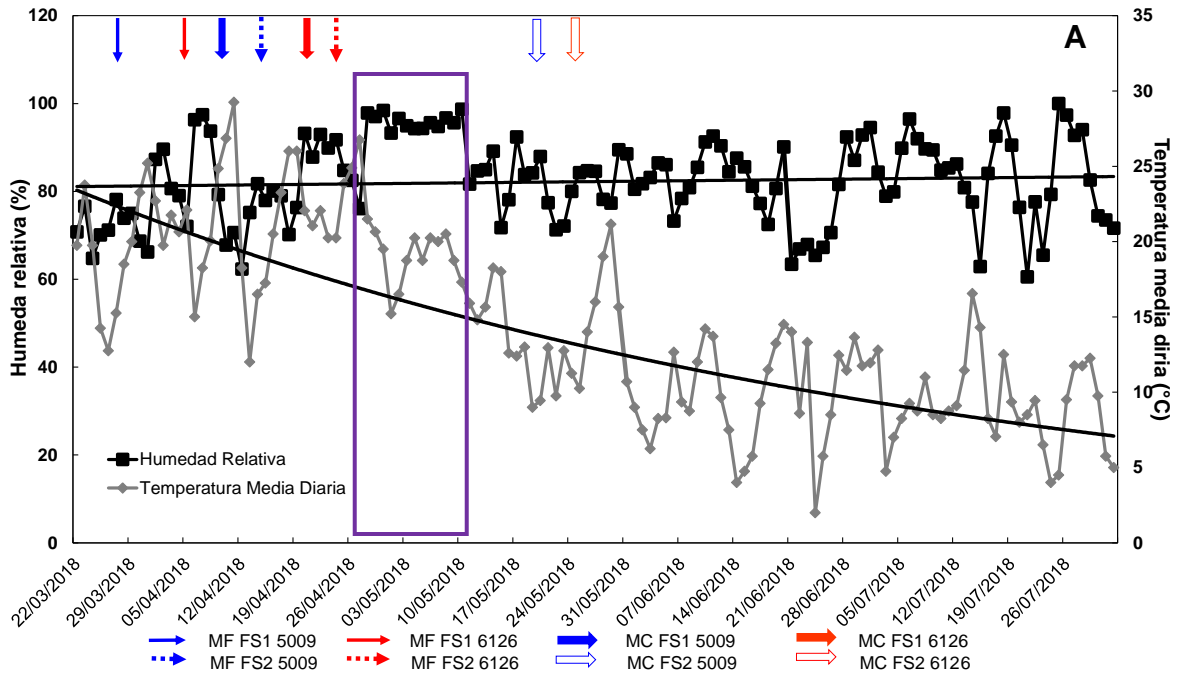


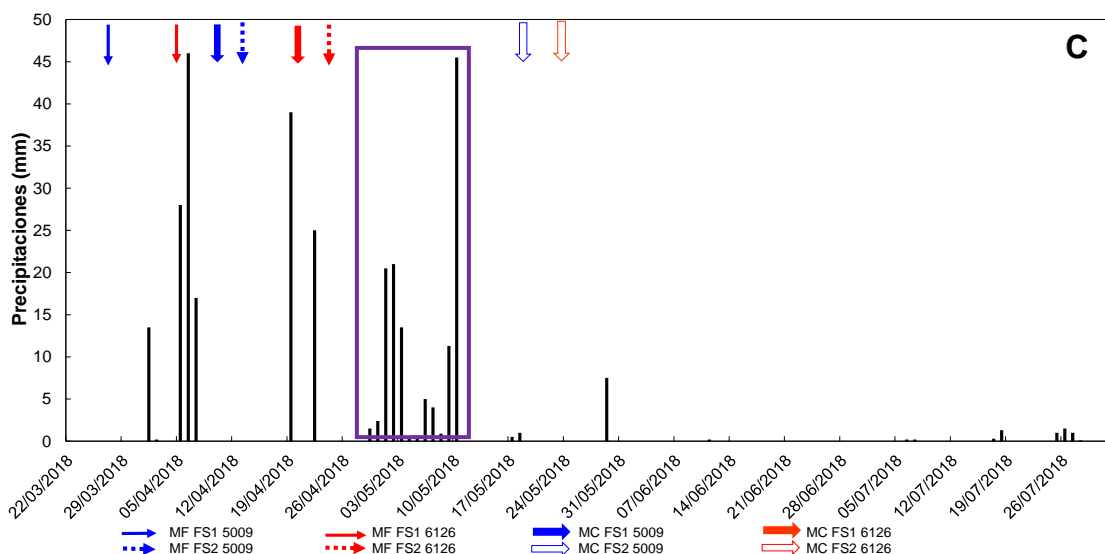


**Foto 3.** Ejemplos de semillas caracterizadas a partir de la prueba de tetrazolio con distintos tipos y niveles de daños. Semillas viables sin defectos (a), daño ambiental tradicional moderado (b), daño ambiental más picadura de chinche (semilla no viable; c), otros tipos de daños como tejidos inmaduros (semilla no viable; d) y malformaciones genéticas (semilla no viable; e).

Teniendo en cuenta que la causa principal del deterioro de la CF de las semillas fue ambiental (Tabla 5) y que la misma se registró en momentos específicos del período evaluado para los distintos tratamientos, a continuación se analizó la evolución de la T, la HR, el DPV y las lluvias a partir del estadio fenológico R7 - 4d del genotipo 5009, más precoz, hasta R7 + 105d del genotipo 6126, más tardío (Figura 4).

La Figura 4 muestra las fluctuaciones diarias y la tendencia estacional de los factores ambientales analizados. Respecto de la tendencia estacional, se puede observar que mientras que la HR se mantuvo con un promedio ajustado cercano al 80 % durante el período evaluado, la temperatura promedio ajustada cayó gradualmente de aproximadamente 24 a 7 °C, y el DPV de 5 a 1 kPa durante el mismo período. No obstante, se registraron marcadas fluctuaciones en el promedio diario para cada uno de estos factores. Por ejemplo, para la HR se observó un período continuo de valores cercanos al 100 % entre el 28 de Abril y el 10 de Mayo (Recuadro-Figura 4A,). Este incremento en la HR coincidió con un período baja demanda atmosférica (0.53 a 0,25 kPa, Recuadro-Figura 4B). Esta situación fue provocada por abundantes precipitaciones (126.5 mm) caídas durante el período mencionado (Recuadro-Figura 4C). Este ejemplo muestra con claridad la interacción existente entre los factores climáticos analizados.

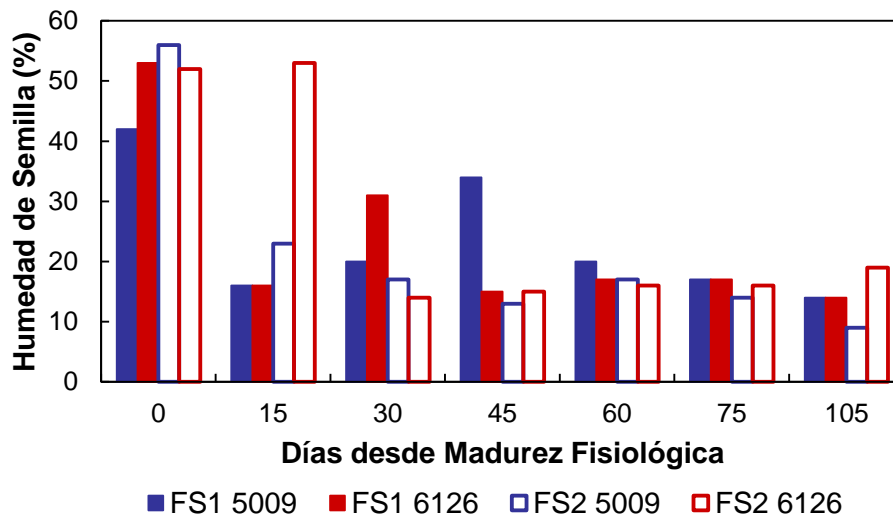




**Figura 4.** Evolución diaria de la Temperatura Media ( $T$ , °C) y la Humedad Relativa (HR, %) (4 A); el déficit de presión de vapor atmosférico (DPV, kPa) (4 B), y las lluvias (mm) (4 C) desde la madurez fisiológica (MF) - 4 d del genotipo 5009 (más precoz) en la fecha de siembra 1 (FS1), hasta MF + 105 d del genotipo 6126 (más tardío) en la fecha de siembra 2 (FS2). Las flechas de trazo fino indican Madurez Fisiológica (MF) y las de trazo grueso Madurez Comercial (MC), para los genotipos 5009 (azul) y 6126 (rojo). Para la MF las flechas finas enteras y punteadas corresponden a las FS1 y F2, respectivamente. Para la MC las flechas gruesas llenas y vacías corresponden a las FS1 y FS2, respectivamente. El recuadro dentro de cada figura corresponde a un temporal de alta HR, bajo DPV y abundantes precipitaciones que se registró desde el 28/04 hasta el 10/05.

Como puede observarse en la Figura 4, en el período en el que se registraron altas precipitaciones y alta HR (temporal ocurrido entre 28 de Abril y el 10 de Mayo), en la FS1 ambos genotipos ya habían alcanzado la MC. Mientras que en la FS2 el genotipo 5009 estaba en MF + 14 d y el genotipo 6126 estaba en MF + 4 d. Lo que significa que, si bien en la FS2 ninguno de los dos genotipos había alcanzado la MC cuando comenzó el temporal, el genotipo 5009 tenía un mayor grado de deshidratación que el genotipo 6126.

Dado que el estado de desarrollo de la semilla (caracterizado como su porcentaje de humedad, HS) es un factor importante en la respuesta de la misma a las condiciones ambientales, a continuación se caracterizó la evolución de la HS, a partir de la MF, de los dos genotipos estudiados en las dos FS (Figura 5).



**Figura 5.** Evolución de la Humedad de la Semilla en función de los días desde Madurez Fisiológica. Las barras azules corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes) y las barras rojas al genotipo 6126 (semillas pequeñas), sembrados en las fecha de siembra 1 (FS1, barras llenas) y en la fecha de siembra 2 (FS2, barras vacías).

Dada las diferencias entre los genotipos y fechas de siembra, al momento en que se produjo el temporal, los distintos tratamientos se encontraban con distintos niveles de HS. Mientras que el genotipo 5009 y 6126 en la FS1 habían alcanzado niveles de HS óptimos para la cosecha (~ 14%, Figura 5), el genotipo 5009 en la FS2 aún se encontraba en el período de deshidratación rápida (~ 23%), por lo que para estos tres tratamientos los granos sufrieron un proceso de rehidratación. Esta rehidratación se evidenció claramente en la Figura 5 para los dos genotipos sembrados en la FS1, los cuales pasaron de tener valores de HS de ~ 14 % a los 15 DDMF, a valores de 35 % en el genotipo 5009 a los 45 DDMF y 31 % en el genotipo 6126 a los 30 DDMF. Por el contrario, al momento del temporal el genotipo 6126 en la FS2, se encontraba con altos niveles de HS (~ 53%), por lo que si bien la deshidratación en principio no fue rápida para este tratamiento, luego del temporal la misma continuó sin marcados inconvenientes (Figura 5).

Es importante tener en cuenta que la semilla de soja deshidratada presenta un tegumento muy delgado y una capa seminal altamente permeable, lo que hace que la misma sea muy higroscópica y se hidrate y deshidrate con gran facilidad ante fluctuaciones en la HR (TeKrony et al., 1980). En relación a esto último, se ha demostrado que las fluctuaciones en la HR y/o el estrés por altas temperaturas que ocurren luego de MF generan un daño oxidativo en las células, llevando a un rápido deterioro de las mismas. Este daño oxidativo es generado por especies reactivas de oxígeno tales como: superóxido, peróxido de hidrógeno, radicales libres de hidróxilo, etc; que aumentan su producción y acumulación ante

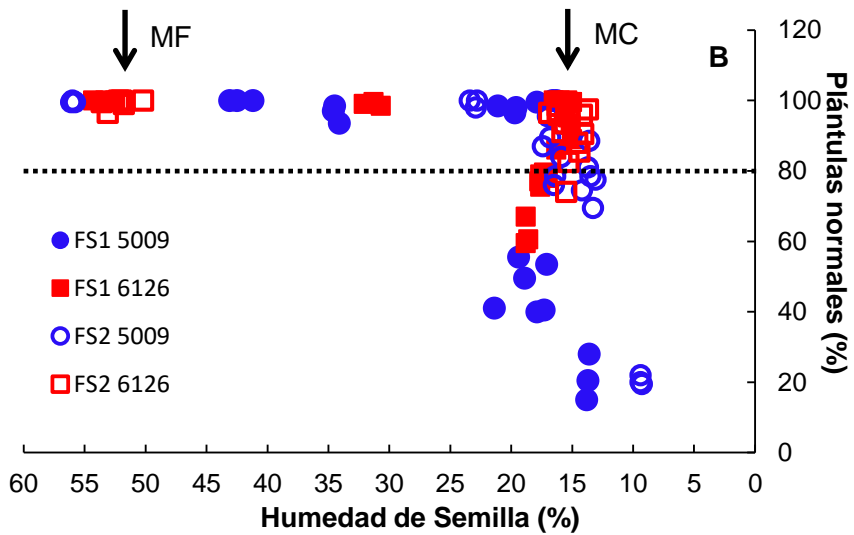
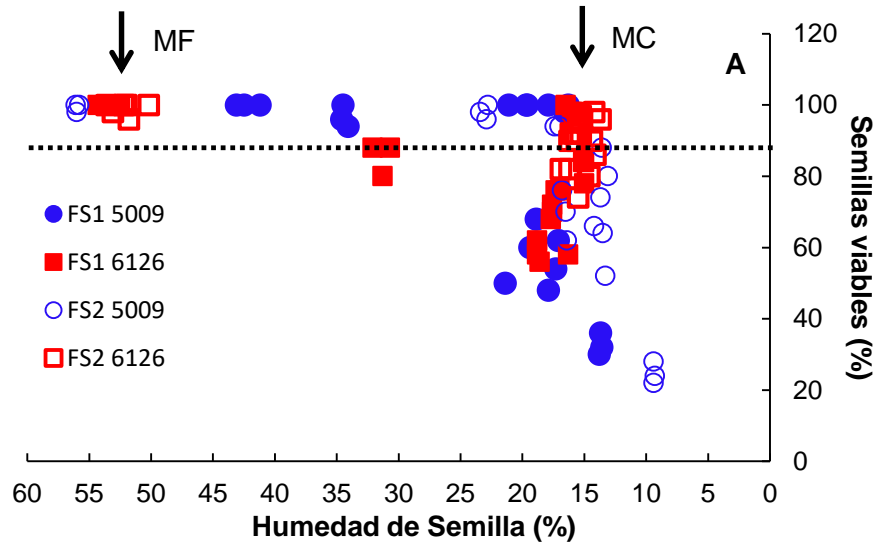
condiciones ambientales adversas (Foyer et al., 1994). Las especies reactivas de oxígeno inician el envejecimiento de las semillas a partir de la degradación de los fosfolípidos de la membrana celular y del deterioro de proteínas estructurales y funcionales y del material genético (Raijou et al., 2012; Fu et al., 2015; Kurek et al., 2019). Este deterioro en las membranas fosfolipídicas se pudo evidenciar cuando se evaluaron los atributos de CF a través de las pruebas de conductividad eléctrica (PgCE y VigCE, Figura 2B Y 3B).

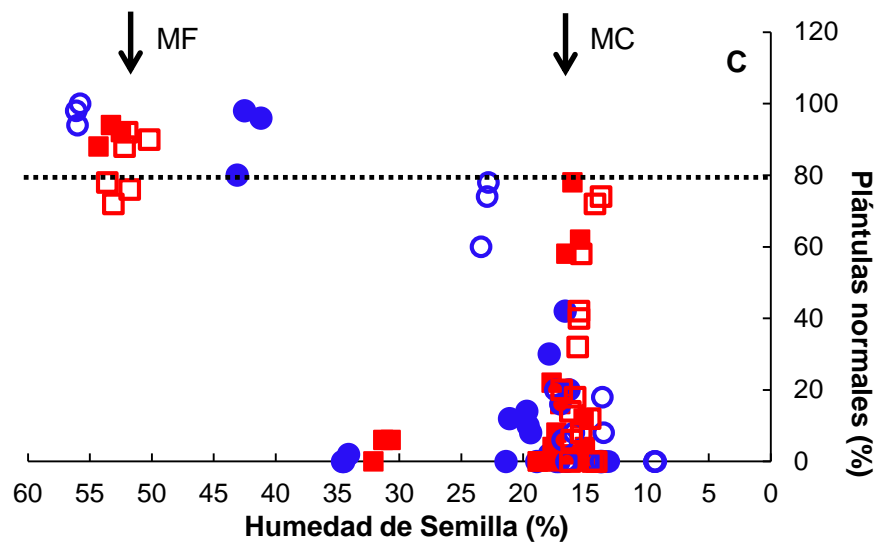
En general se ha observado que el deterioro de las semillas en soja está asociado con el retraso en la siembra y/o cosecha (Miranda et al., 1996; Mohan y Ran, 2005; Muhammad y Khalil, 2013). De hecho algunos autores han establecido que con retrasos en la cosecha de entre 15 y 30 días luego de R8 (MC), la CF de las semillas se reduce significativamente (Diniz et al., 2013; Ali et al., 2018). Sin embargo, en este trabajo se observó que la magnitud del deterioro de las semillas y el momento en el que el mismo se produce no está asociado con la época de siembra y/o cosecha, sino que depende por un lado, de las condiciones ambientales (T, HR y lluvias) presentes durante los períodos MF-MC y MC-cosecha, y por otro del estadio de desarrollo en el que se encuentra el cultivo y el contenido de HS al momento de producirse las condiciones ambientales adversas.

En relación al momento en que se produjo el deterioro de las semillas, los dos genotipos en las dos FS mantuvieron valores de CF altos hasta el momento en que se produjo el temporal (alta HR, bajo DPV y alta precipitaciones). Por lo tanto, la caída en los valores de CF se dio en distintos momentos dependiendo de la FS (entre los 45-60 días en la FS1 y a partir de los 30 DDMF en la FS2). En cuanto a la magnitud del deterioro, se observó una caída más pronunciada en los valores de CF caracterizados en ambos genotipos en la FS1. En la FS2 si bien en principio la caída en los valores de CF fue menos pronunciada, mientras que para el genotipo 5009 los atributos de CF disminuyeron de manera constante hasta el final de la evaluación, el genotipo 6126 mostró un menor grado de deterioro manteniendo valores de CF altos durante todo el período caracterizado (105 días, Figuras 1, 2A, 2B, 3B, 3C). Como se citara anteriormente, posiblemente las diferencias observadas hayan estado relacionadas con el estadio fenológico en el que se encontraba el cultivo al momento de presentarse las condiciones ambientales adversas y con el contenido de HS. Es posible que si el cultivo se encuentra en MF previo a que se produzca la deshidratación rápida del grano y con altos niveles de HS, la resistencia al deterioro del mismo sea mayor, permitiendo conservar valores de CF cercanos a los aceptables durante un período de tiempo más prolongado. Sin embargo, si las semillas se han deshidratado completamente (HS ~ 14%) y luego se rehidratan, el grado de deterioro de las mismas ante condiciones ambientales adversas es mayor.

Si consideramos entonces que el deterioro de la CF de las semillas estuvo relacionado con su estado de desarrollo, caracterizado por la HS, una alternativa

interesante sería caracterizar los atributos de CF en función del contenido de HS (Figura 6A, 6B, 6C).





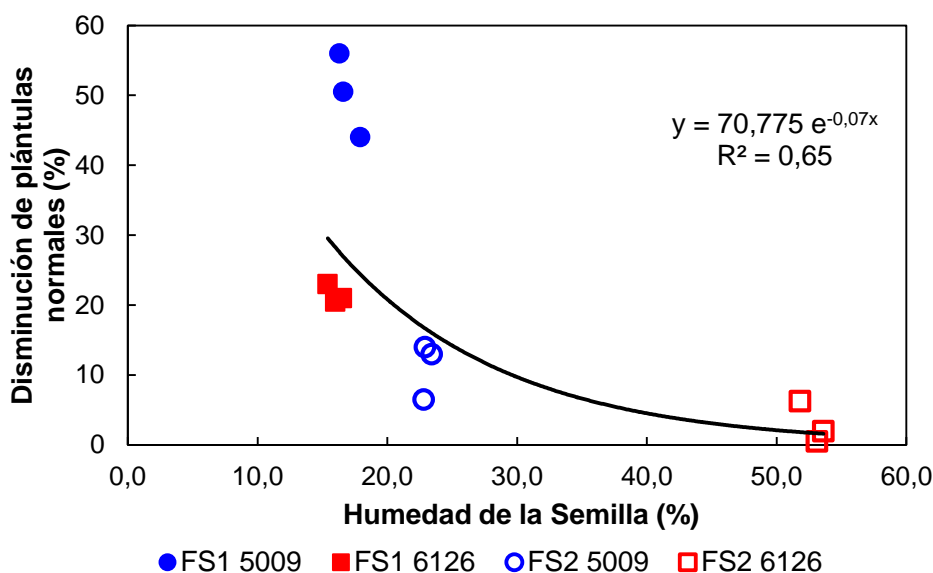
**Figura 6.** Viabilidad por Tetrazolio (% de semillas viables; 6A), Poder Germinativo por Prueba de Germinación Estándar (% de plántulas normales; 6B) y Vigor por Envejecimiento Acelerado (% plántulas normales; 6C), en función del contenido de Humedad de las semillas (HS). Los círculos corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes, azul) y los cuadrados al genotipo 6126 (semillas pequeñas, rojo), sembrados en las fecha de siembra 1 (FS1), símbolos llenos, y fecha de siembra 2 (FS2), símbolos vacíos. Cada punto corresponde a una repetición. La línea de puntos horizontal representa el valor umbral para cada una de las variables caracterizadas (90, 80 y 80 %, para porcentaje de semillas viables y plántulas normales por GE y EA, respectivamente). MF: Madurez Fisiológica y MC: Madurez Comercial.

Al expresar los valores de CF en función de la HS, las tres variables caracterizadas presentaron el mismo patrón para los cuatro tratamientos analizados. En general, pudieron observarse dos períodos bien definidos en función de la HS. El primero que va desde la MF (50-55 %) hasta cercana la MC (14-15 %) y el segundo desde valores próximos a la MC hasta la fecha de la cosecha efectiva (CO). Independientemente de las condiciones ambientales a las que estuvieron expuestos cada uno de los tratamientos evaluados, desde MF y hasta cerca la MC, los valores de CF se mantuvieron elevados, excepto para el ensayo de vigor por envejecimiento acelerado en la FS1, donde ambas variedades mostraron una caída abrupta con HS de 30-35 % (Figura 6C). Este comportamiento podría explicarse, al menos para la variedad 6126, teniendo en cuenta el 29 % de daño por chinches registrado para esta variedad a los 30 DDMF (Tabla 5), cuando su HS era del 30 % (Figura 5). Lo novedoso de estos resultados es que hasta el momento en investigaciones previas se había postulado por un lado, que las semillas alcanzan la máxima CF en MF, y que a partir de ese momento tanto la viabilidad como el vigor caen abruptamente (Harrington, 1972; Krzyzanowski et al., 2008), y por otro, que la capacidad de germinación y la longevidad de las semillas de soja se incrementa cerca de la MC (cuando el

contenido de humedad disminuye en forma natural a 14-15 %) (Ellis et al., 1987; Zanakis et al. 1993 y 1994).

En este contexto, es importante tener presente que las fases principales en el desarrollo seminal de semillas ortodoxas comprenden: 1) La histodiferenciación (*morfogénesis, formación de los tejidos seminales*), 2) La acumulación de reservas (*síntesis de almidón, proteínas, lípidos, etc.*) y 3) La desecación (*pérdida de agua y preparación para el período de quiescencia previo a la germinación*). Por lo tanto, el proceso de deshidratación gradual que ocurre entre MF y MC es parte integral del desarrollo de la semilla, y durante el mismo ocurren importantes procesos fisiológicos que incluyen, entre otros, la expresión de un gran número de genes que controlan programas metabólicos que ocurren durante esta fase del desarrollo seminal y preparan a la semilla para la posterior germinación (Angelovici et al., 2010). Es por ello que no debería sorprender que la CF de las semillas se mantenga elevada hasta la MC.

Esto nos lleva a distinguir lo que ocurre entre MF y MC de lo que ocurre entre la MC y la CO. Es decir, mientras las semillas se encuentran perdiendo naturalmente humedad, en la última fase de su desarrollo (*i.e.* entre MF y MC), la tolerancia a las adversidades climáticas (*i.e.* T y HR) sería más alta. En cambio, si las semillas luego de alcanzada la MC se vuelven a hidratar, los valores de CF se verían seriamente afectados. Para representar en forma gráfica lo mencionado anteriormente se caracterizó el porcentaje de caída en el atributo PgGE en función del contenido de humedad que presentaban las semillas previo a que se diera el período de condiciones ambientales desfavorables (para nuestro estudio alta HR, altas precipitaciones y bajo DPV). En el mismo se puede observar que, para HS de entre aproximadamente 15 y 55 %, cuanto mayor es la HS, menor es la caída en los valores de PgGE y por lo tanto, mayor es la resistencia al deterioro de la CF por factores ambientales. Por el contrario, cuando la HS se acerca al valor de MC, la caída en el PgGE aumenta significativamente indicando una baja resistencia al deterioro por weathering.



**Figura 7.** Evolución de la caída en el poder germinativo (% disminución de plántulas normales), evaluado a través de la prueba de Germinación Estándar (GE), en función de la Humedad de la Semilla (HS) de cada genotipo previo al período de condiciones ambientales desfavorables (28/04 al 10/05). Para la fecha de siembra 1 (FS1), como la caída en los valores de PgGE se dio a los 60 DDMF para ambos genotipos, el % se calculó como la diferencia de PgGE en ese momento y cuando la semilla alcanzó la MC. En cambio para la fecha de siembra (FS2), el % se calculó como la diferencia de PgGE a los 45 DDMF (momento de caída en los valores de PgGE) y a la MC. Los círculos corresponden al genotipo 5009 (semillas grandes, azul) y los cuadrados al genotipo 6126 (semillas pequeñas, rojo), sembrados en las FS1 (símbolos llenos) y FS2 (símbolos vacíos).

A partir de estos resultados y teniendo en cuenta que el objetivo de los semilleros y/o de los productores es obtener semillas con alta CF, sería interesante caracterizar la HS a partir de la MF y hasta la cosecha efectiva con el objeto de predecir cómo podrían impactar las condiciones ambientales adversas durante dicho período sobre la CF de las semillas.

En relación al efecto del tamaño de la semilla sobre la CF, la Figura 7 permitió además diferenciar claramente a las dos variedades utilizadas. En dicha figura se puede observar que para una misma fecha de siembra, el genotipo de semilla grande (5009) mostró un mayor deterioro del PgGE en comparación con el de semilla pequeña (6126). Es más, en el caso del genotipo 6126 en la FS2, la CF se mantuvo alta por un período de más de 100 días luego de MF (Figuras 1, 2A, 2B, 3B y 3C). Por lo tanto, para este estudio, se observó una mayor resistencia al deterioro de la CF de la variedad de semillas pequeñas (6126) respecto de la variedad de semillas grandes (5009). Estos resultados concuerdan con los de Dassou y Kueneman (1984), quienes observaron que genotipos de semillas

grandes fueron en general más susceptibles al deterioro por “weathering” en relación a los de semillas pequeñas.

Actualmente existe variabilidad genética relacionada con la resistencia al deterioro de la CF de las semillas por “weathering” (Paschal and Ellis, 1978; Santos et al., 1996; Diniz et al., 2013). En muchos casos esta variabilidad ha estado relacionada con la dureza del tegumento, mostrando las semillas de mayor dureza de tegumento una mayor resistencia al deterioro (Potts et al., 1978). Por su parte, Ali et al. (2018), relacionaron el tamaño de la semilla con las características del tegumento y sus efectos sobre la CF. Los autores encontraron que las semillas pequeñas presentaban una mayor dureza del tegumento, lo que les generaba una mayor resistencia al deterioro por “weathering”.

En relación al tegumento que recubre las semillas de soja, se ha observado que la resistencia al deterioro está dada por la capa externa del tegumento (epidermis), y esta resistencia estaría asociada a una menor permeabilidad de la misma y mayor resistencia al daño mecánico. A su vez, la mayor dureza de la epidermis estaría relacionada con un mayor contenido de lignina (Alvarez, P.J.C. et al., 1997). Además del contenido de lignina, otro de los factores que pueden generar diferencias a nivel de tegumento son una serie de aberturas naturales (poros), que según la cantidad de los mismos (porosidad) varía la permeabilidad de dicho tegumento. Se han observado tegumentos totalmente impermeables en los cuales no se encontraron “poros”. Estas aberturas serían la principal puerta de absorción de agua y de entrada de patógenos en la semilla. Por último, se ha encontrado una sustancia tipo cerosa que se deposita sobre el tegumento de la semilla, que proviene de un exudado del endocarpio de la vaina, que tapanía temporalmente a los poros y actuaría como un retardador de la absorción de agua, que luego de cierto tiempo se desprende del tegumento permitiendo el paso del agua por esas aberturas (Casini y Andrews, 1992).

Si bien en este estudio no se evaluó ninguna característica relacionada con el tegumento, es posible que hayan existido diferencias a nivel del mismo entre las semillas pequeñas y grandes, que pueden haber sido la causa del distinto grado de deterioro observado entre los dos genotipos evaluados. Al respecto, sería interesante incluir en una próxima evaluación a estos caracteres. Además, sería importante ampliar el rango de materiales caracterizados para determinar la efectividad que presentan las variables mencionadas para diferenciar variedades en función a la resistencia al deterioro por condiciones ambientales desfavorables.

La característica de resistencia al deterioro de la semilla de soja ha sido largamente estudiada y se ha llegado a la conclusión de que es una de las herramientas más efectivas para disminuir la incidencia de los factores adversos (bióticos y abióticos) que afectan su calidad (Potts; H.C., et al, 1978). Sin embargo, el mejoramiento del cultivo ha sido mayormente dirigido a mejorar el comportamiento del mismo para obtener mayores rendimientos, logrado a partir de

un mejor comportamiento fisiológico de la planta y una mayor resistencia/tolerancia a los factores de estrés biótico y abiótico, descuidando el aspecto de mejorar la calidad de las semillas en cuanto a la resistencia al deterioro (Casini et al., 1997). Los resultados presentados en este trabajo demuestran la importancia de caracterizar el comportamiento de los materiales comerciales frente al deterioro de las semillas por “weathering”. Contar con esta información facilitará la posterior toma de decisiones relacionadas con el manejo del cultivo con el fin de obtener semillas con la máxima CF posible.

#### 4. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir que:

- El grado de deterioro que presentaron las semillas por condiciones ambientales adversas durante el período de MF-cosecha, estuvo afectado por el estadio fenológico en que se encontraba el cultivo y el contenido de HS. Se demostró que si en el momento en el que se producen dichas condiciones, el cultivo se encuentra en MF o con niveles de HS superiores a los de cosecha, la resistencia al deterioro del mismo es mayor, permitiendo conservar valores de CF elevados durante un período de tiempo más prolongado.
- Las variables fecha de siembra y/o cosecha no permitieron predecir con exactitud el momento en que se produce el deterioro de la CF semillas. Es por ello que postulamos a la HS como variable predictora del impacto que podrían tener las condiciones ambientales sobre la CF de las semillas durante los períodos MF-MC y MC-cosecha efectiva.
- En relación al tamaño de la semilla, si bien la caracterización de esta variable se realizó solo sobre dos genotipos, se observó una mayor resistencia al deterioro de la CF de la variedad con semillas pequeñas (6126) comparada con la variedad de semillas grandes (5009) en las dos FS. Este resultado plantea la necesidad de caracterizar a los materiales disponibles para su comercialización en función a la resistencia al deterioro, constituyéndose así en una herramienta efectiva para disminuir la incidencia de los factores adversos (climáticos y mecánicos) sobre la CF de las semillas.
- Los niveles de CF se mantuvieron elevados y prácticamente sin cambios durante el período de MF-MC. Estos resultados sugieren la necesidad de revisar el concepto de que las semillas en el campo alcanzan la máxima CF en MF, y que a partir de ese momento tanto la viabilidad como el vigor caen abruptamente.

**BIBLIOGRAFÍA**

Adebisi, M. A.; Kehinde, T. O.; Salau, A. W.; Okesola, L. A.; Porbeni, J. B. O.; Esuruoso, A. O.; & Oyekale, K. O. (2013). Influence of different seed size fractions on seed germination, seedling emergence and seed yield characters in tropical soybean (*Glycine max* L. Merrill). *Int. J. Agric. Res*, 8, 26-33.

Angelovici R.; Galili G.; Fernie A.R.; Fait A. (2010). Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends Plant Sci.* 15(4):211-8.

Ali, I. M.; Nulit, R.; Ibrahim, M. H. & Uddin, M. K. (2018). Effect of delay harvest on seed quality and germination of three varieties of soybean (*Glycine max*) seeds. *Plant Archives*, 18(2), 1961-1966.

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

Andrews, C. H. (2016). Preharvest environment: weathering. <https://ir.library.msstate.edu>

Baigorri HEJ.; Croatto DRE. (eds.) (2000). Manejo del cultivo de la soja en Argentina. INTA Centro Regional Córdoba - EEA Marcos Juárez.

Bauer, G.; Weilenmann de Tau, E.; Peretti, A.; Monterrubianesi. (2003). Germinación y vigor de semillas de soja del grupo de maduración III cosechadas bajo diferentes condiciones climáticas. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 25, nº 2, p.53-62.

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

BCR. Bolsa de Comercio de Rosario. Consultado en Octubre de 2019. Recuperado de: <https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx>.

Burris, J. S.; Edje, O. T. & Wahab, A. H. (1973). Effects of Seed Size on Seedling Performance in Soybeans: II. Seedling Growth and Photosynthesis and Field Performance 1. *Crop Science*, 13(2), 207-210.

Cabtter, J. L. & Habtwig, E. E. (1962). The management of soybeans. *Advances in Agronomy* 14, 359- 412.

Carvajal, C.; Márquez, M.; Gutiérrez, B.; González-Vera, A.; Arellano, J. & Ávila, M. (2018). Aspectos de fisiología, deterioro y calidad en semilla de soya. *Revista de la Facultad de Agronomía, Venezuela*.

Casini, C. & Andrews, C. (1992). Water absorption of Soybean (*Glycine max* (L) Merr.) seeds with different levels of permeability and different sizes. *Symposium Abstracts, XXIII International Seed Testing Congress*. Buenos Aires, Argentina 2-4 November 1992.

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

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

Dassou, S. & Kueneman, E. A. (1984). Screening Methodology for Resistance to Field Weathering of Soybean Seed 1. *Crop Science*, 24(4), 774-779.

Delouche, J. C.; Still, T. W.; Kaspert, M. & Lienhaed, M. (1962). The tetrazolium test for seed viability. *Mississippi Agriculture Experiment Station Technical BiMetin no. 51*.

Delouche, J.C. (1980). Environmental effects on seed development and seed quality. *HortScience* 15:775-780.

Delouche, J. C. (2002). Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed News*. Nov-dic-2002. Brasil. 8 p.

Diniz, F. O.; M. S. Reis, L. A. D. S.; Dias, E. F.; Araújo, T. Sedyama & C. A. Sedyama (2013). Physiological quality of soybean seeds of cultivars submitted to harvesting delay and its association with seedling emergence in the field. *Journal of Seed Science*, 35(2): 147-152.

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. *InfoStat versión (2019)*. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar/>

Edwards, C. J. & Hartwig, E. E. (1971). Effect of Seed Size upon Rate of Germination in Soybeans 1. *Agronomy Journal*, 63(3), 429-450.

Ellis, R. H.; Hong, T. D. & Roberts, E. H. (1987). The development of desiccation tolerance and maximum seed quality during seed maturation in six grain legumes. *Annals of Botany* 59:23-29.

Egli, D.B. & D.M. TeKrony. (1995). Soybean seed germination, vigor and field emergence. *Seed Sci. and Technol.* 23:595-607.

Fehr, W. R. & Caviness, C. E. 1977. Stages of soybean development. Special report 80:1-12. Iowa State University, Ames, Iowa.

Ferguson, J. (1995). An introduction to seed vigour testing. In: *Seed Vigour Testing Seminar*. Copenhagen. [Proceedings...] Zurich : International Seed Testing Association, p. 1-9.

Forti, V. A.; de Carvalho, C.; Tanaka, F. A. O. & Cicero, S. M. (2013). Weathering damage in soybean seeds: assessment, seed anatomy and seed physiological potential. *Seed Technology*, 213-224.

Foyer, C.H.; P. Descourvieres & K.J. Kunert. (1994). Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.* 92: 696–717.

Fu, Y.B.; Ahmed, Z.; Diederichsen, A. (2015). Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. *Conserv. Physiol.* [CrossRef].

Gallo, C.; Ceccarelli, N.; Bacigaluppo, S.; Craviotto, R. & Arango, M. (2011). Diagnóstico de la calidad de semillas de soja de la campaña 2010-2011 producidas en la localidad de Oliveros, Argentina. Para mejorar la producción. *Cultivos estivales*, (46).

Green, D. E.; Pinnell, E. L.; Cavanah, L. E. & Williams, L. F. (1965). Effect of planting date and maturity date on soybean seed quality. *Agronomy Journal* 57, 165-8.

Green, D.E.; L.E. Cavannah, & E.L. Pinnell. (1966). Effect of seed moisture content, weathering, and combine cylinder speed on soybean seed quality. *Crop Sci.* 6:7-10.

Harrington, J.F. (1972). Seed storage and longevity. p. 145-245. *In* Kozlowski, T.T. (ed.) *Seed biology*. Volume III. Academic Press, New York.

Howell, R.W.; F.I. Collins, & V.E. Sedgewick. (1959). Respiration of soybean seeds as related to weathering losses during ripening. *Agron. J.* 51:677-679.

[https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_informe\\_estadistico\\_del\\_mercado\\_de\\_soja.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_informe_estadistico_del_mercado_de_soja.pdf)

INASE. Instituto Nacional de Semillas, 2003. Tolerancias para semilla fiscalizada e identificada de cereales y oleaginosas. RS-SAGYP-2270.

INTA. Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria, 1997. Analizador Automático de Semillas SAD 9000-S. Según normas ISO 9001:2008 e ISO 17025. Tecnología de Semillas generada por el INTA EEA Oliveros y Grupo Consultar.

ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2003. International Rules for Seed Testing. Zurich. 300 pp.

ISTA. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2003. ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing Vol I. & Agricultural, Vegetable Horticultural Species. Edited by Leist, N., Kramer, S., Jonitz, A., Basserdorf, CH\_Switzerland. 200 pp.

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

Krzyzanowski, F.C.; Franca-Neto, J.B.; Henning, A.A.; Costa, N.P. (2008). O controle de qualidade agregando valor à semente de soja – Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja. 12p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 54).

Kurek, K.; Plitta-Michalak, B. & Ratajczak, E. (2019). Reactive Oxygen Species as Potential Drivers of the Seed Aging Process. *Plants*, 8(6), 174.

Marcos-Filho, J. (2005). Fisiología de semillas de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ,. 495p.

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

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

Miles, D.F.; D.M. TeKrony, & D.B. Egli. (1988). Changes in viability, germination, and respiration of freshly harvested soybean seed during development. *Crop Sci.* 28:700-704.

Miranda, G.V.; Souza, P.I.M.; Moreira, C.T.; Spehar, C.R. (1996). Efeito de épocas de colheita e debulha sobre a qualidade física e fisiológica de sementes da soja. *Revista Ceres*, v. 43, n. 249, p. 663-673. <http://www.ceres.ufv.br/CERES/revistas/V43N249P05496.pdf>

- Mohan, Y. & Ram, H. H. (2005). Seed quality aspects in soybean {*Glycine max* (L.) Merrill}— A review. *Agricultural Reviews*, 26(3), 187-194.
- Muhammad, A. & Khalil, S. K. (2013). Changes in soybean seed quality and vigour under different planting dates. *CHANGES*, 2(3).
- Nangju, D. (1977). Effect of date of harvest on seed quality and viability of soya beans. *The Journal of Agricultural Science*, 89(1), 107-112.
- Oya, T., Nepomuceno, A. L., Neumaier, N., Farias, J. R. B., Tobita, S., & Ito, O. (2004). Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars. *Plant Production Science*, 7(2), 129-137.
- Pashal, E.H. II & M. A. Ellis. (1978). Variation in seed quality characteristics of tropically grown soybeans. *Crop Sci.* 18:837-840.
- Potts, H.C.; Duangpatra, Hairston, W.G. & J.C. Delouche. (1978). Some influences of hardseededness on soybean seed quality. *Crop Sci.* 18(2): 221-224.
- Priestley, D.A.; Cullinan, V.I.; Wolfe, J. (1985). Differences in seed longevity at the species level. *Plant cells and Environment*, Leicester, v.8, n. 3, p. 557-562.
- Rajjou, L.; Duval, M.; Gallardo, K.; Catusse, J.; Bally, J.; Job, C.; Job, D. (2012). Seed germination and vigor. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 63, 507–533.
- Rezapour, R.; Kazemi-arbat, H.; Yarnia, M. & Zafarani-Moattar, P. (2013). Effect of seed size on germination and seed vigor of two soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 4(11), 3396-3401.
- Ries, S.K. & E.H. Everson, (1973). Protein content and seed size relationships with seedling vigor of wheat cultivars. *Agron. J.*, 65:884-886.
- Roy, S.K.S.; A. Hamid, M.G. Miah & A. Hashem, (1996). Seed size variation and its effects on germination and seedling vigour in Rice. *J. Agron. Crop Sci.*, 176: 79-82.
- Salinas, A. R.; Yoldjian, A. M.; Craviotto, R. M. & Bisaro, V. (2001). Vigor tests and physiological quality of soybean seeds. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(2), 371-379.
- Santos, V.L.M.; Silva, R.F.; Cardoso, A.A.; Sedyama, T. (1996). Avaliação da produtividade e da qualidade das sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), colhidas na maturação fisiológica e trinta dias após o ponto de colheita.

Revista Brasileira de Sementes, v.18, n.1, p.50-56.,  
<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1996/v18n1/artigo09.pdf>

Sinclair, T.R.; Salado-Navarro, L.R.; Salas, G.; Purcell, L.C. (2007). Soybean yields and soil water status in Argentina: Simulation analysis. *Agric Syst* 94: 471-477.

Specht, J.E.; Hume, D.J.; Kumudini, S.V. (1999). Soybean yield potential - A genetic and physiological perspective. *Crop Sci* 39: 1560-1570.

Tekrony, D.H.; D.B. Egli, & A.D. Phillips (1980). Effect of field weathering on the viability and vigor of soybean seed. *Agron. J.* 72:749-753.

Zanakis, G. N.; Ellis, R. H. & Summerfield, R. J. (1993). Response of seed longevity to moisture content in three genotypes of soyabean (*Glycine max*). *Experimental Agriculture* 29:449-459.

Zanakis, G. N.; R. H. Ellis, & R.J. Summerfield (1994). Seed quality in relation to seed development and maturation in three genotypes of soyabean (*Glycine max*). *Expl Agric.* 30: 139-156.

Zhang, L. X.; Kyei-Boahen, S.; Zhang, J.; Zhang, M. H.; Freeland, T. B.; Watson, C. E. & Liu, X. (2007). Modifications of optimum adaptation zones for soybean maturity groups in the USA. *Crop Management*, 6(1), 0-0. doi:10.1094/CM-2007-0927-01-RS.