

Nota Técnica

EVALUACIÓN DEL VIGOR EN SEMILLAS DE OCHO CULTIVARES DE ARROZ MEDIANTE PRUEBAS DE PRIMER CONTEO DE GERMINACIÓN Y ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Naya Quintana¹, Yorman Jayaro¹, Manuel Avila¹, Marbella Romero¹,
Nancy Clisanchez¹ y Yenny Alejos¹

RESUMEN

El arroz constituye uno de los rubros agrícolas de mayor importancia en Venezuela y el conocimiento del vigor de la semilla puede aportar información sobre su eventual desempeño en campo. Semillas de ocho cultivares de arroz con distintos tiempos de almacenamiento fueron sometidos a pruebas de germinación estándar (PG), emergencia en campo (EC), primer conteo de germinación (Pc5) y envejecimiento acelerado (EA), con la finalidad de evaluar los últimos dos métodos como indicadores del vigor de la semilla. Los resultados de la PG variaron entre cultivares de arroz, y para todos los lotes de semilla la EC siempre fue menor que la PG, demostrando el mayor estrés en las condiciones de campo. No hubo correlación entre el tiempo de almacenamiento y la PG o EC, evidenciando que otros factores también afectaron la germinación. La línea regresora de EC en función de PG fue moderada y explicó menos del 50 % de la variabilidad existente en los datos. El Pc5 mostró una baja asociación con la emergencia en campo ($r^2 = 0,1753$), y entre los métodos de EA evaluados, la incubación por 72 horas (EA72) mostró la mejor asociación con la emergencia en campo ($r^2 = 0,6669$; $P = 0,0134$), siendo así el más indicado entre los métodos evaluados para la estimación del vigor de la semilla de arroz de los cultivares probados y en los ambientes donde se llevó a cabo el ensayo.

Palabras clave adicionales: Calidad de semilla, *Oryza*, post-cosecha

ABSTRACT

Evaluation of seed vigor of eight rice cultivars by the first germination count and fast ageing methods

Rice is one of the most important agricultural crops in Venezuela and knowledge of the seed vigor can provide information about its eventual performance in the field. Seeds of eight rice cultivars with different storage times were subjected to standard germination (PG), field emergence (EC), first germination count (Pc5) and accelerated aging (EA) tests, in order to evaluate the last two methods as indicators of seed vigor. PG results varied among rice cultivars, and for all of them, EC was always lower than PG, confirming the greater stress under field conditions. There was no correlation between storage time and PG or EC, evidencing other factors affecting seed germination. The regression line of EC as a function of PG was moderate and explained less than 50 % of data variability. Pc5 showed a low association with the field emergence ($r^2 = 0.1753$), and among the evaluated EA methods, incubation for 72 hours (EA72) showed the best association with field emergence ($r^2 = 0.6669$; $P = 0.0134$), thus being the most indicated method here for the estimation of rice seed vigor of the tested cultivars under the trial environment.

Additional keywords: *Oryza*, post-harvest, seed quality

INTRODUCCIÓN

El arroz constituye uno de los rubros agrícolas de mayor importancia en Venezuela; para el año 2016 se sembraron unas 72.000 ha, ocupando el tercer puesto en superficie cultivada en el país (FAO, 2021). En Venezuela la siembra del arroz se realiza disponiendo la semilla directamente en el campo, bien sea pre-germinada (luego de remojarla y escurrirla) o “seca” (INIA, 2004; Ortiz y López, 2012). Como en todos los cultivos

propagados por semillas, una rápida y uniforme emergencia de las plántulas en el campo incidirá favorablemente en la uniformidad, el rendimiento y los atributos del producto final al momento de la cosecha, siendo el uso de semilla de alta calidad uno de los elementos de mayor importancia en cualquier sistema agrícola (Marcos, 2015; Elías, 2018). La calidad de la semilla agrupa cuatro aspectos o componentes: genético (nivel de pureza varietal), físico (incidencia de daño mecánico, presencia de materiales distintos a la semilla),

Recibido: Mayo 26, 2023

Aceptado: Diciembre 3, 2023

¹Fundación para la Investigación Agrícola Danac. San Javier, municipio San Felipe, estado Yaracuy, Venezuela.
e-mail: naya.quintana@danac.org.ve (autor de correspondencia); yorman.jayaro@danac.org.ve;
manuel.avila@danac.org.ve; marbella.romero@danac.org.ve; nancy.clisanchez@danac.org.ve; yenny.alejos@danac.org.ve

sanitario (presencia de patógenos) y fisiológico (germinación y vigor), que son determinantes en la capacidad de una semilla para originar una planta productiva. La tecnología de semillas, como parte del proceso productivo, ha buscado mejorar las pruebas utilizadas para evaluar el potencial fisiológico, con el objetivo de que los resultados sirvan como indicativo del desempeño potencial del lote de semillas bajo condiciones de campo. El porcentaje de germinación es un conocido indicador de la calidad de la semilla; no obstante, en vista de que dichos valores son obtenidos en ensayos de laboratorio y en condiciones favorables, no reflejan directamente la capacidad de la semilla para sobrellevar las condiciones de campo, en general, más estresantes en cuanto a condiciones de temperatura, humedad y textura de suelo, entre otras (Ferguson, 1993).

El vigor de la semilla es un conjunto de propiedades que hacen posible el desarrollo rápido y uniforme de plántulas normales con un adecuado desempeño en un amplio rango de condiciones ambientales (AOSA, 1983; ISTA, 2016). El vigor está relacionado directamente con la capacidad de la semilla de llevar a cabo todas las funciones fisiológicas que le permiten cumplir su ciclo para generar una nueva planta; la disminución de esta capacidad se conoce como envejecimiento fisiológico o deterioro y comienza luego de que la semilla alcanza su madurez, incluso antes de la cosecha, y prosigue durante el procesamiento y almacenamiento pudiendo acelerarse con condiciones no adecuadas durante dichos procesos (ISTA, 1995), en función del genotipo, condiciones y tiempo de almacenamiento y manejo agronómico en el proceso de producción de la semilla. Por estas razones, el conocimiento del vigor de un lote de semillas puede aportar información sobre su eventual desempeño en campo, y también sobre su respuesta al almacenamiento. Con este fin han sido desarrollados métodos para calificar los lotes de semillas de acuerdo a su vigor: el método del frío, el envejecimiento acelerado, la medición de la conductividad eléctrica, la prueba topográfica de tetrazolio y la medición del crecimiento de las plántulas durante un tiempo de emergencia determinado (Marcos, 2015). En el caso del arroz han sido probados la mayoría de estos métodos (Islam et al., 1973; Patin y Gutormson, 2005)

siendo criterios, para la selección de alguno de ellos, su capacidad para detectar diferencias entre lotes de semilla con distintos desempeños en campo y el grado de complejidad de la metodología. El envejecimiento acelerado ha sido utilizado en arroz en estudios orientados al conocimiento de las bases fisiológica y genética del vigor (Zhou et al, 2020; Zhou et al., 2022). Con el objetivo de evaluar su fiabilidad y su factibilidad de implantación en el Laboratorio de de la Fundación Danac, se aplicaron los métodos de primer conteo y envejecimiento acelerado para la evaluación del vigor de ocho lotes de semilla de arroz.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Calidad de Granos y Semillas (LCGS) y en el campo experimental del Programa Arroz de la Fundación Danac (10°21'56" N, 68°39'16" W), en el municipio San Felipe del estado Yaracuy, Venezuela, el cual es empleado para la producción de semilla genética de los cultivares de arroz obtenidos por dicha fundación y por ello fue objeto de estudio.

Material Vegetal. Se evaluaron ocho lotes de semilla: siete de los cultivares homocigotas de arroz SD20A y MD248 (Fundación Danac), Fedearroz 50 (Fedearroz/Aproscello) y Soberana FL (INIA); adicionalmente se evaluó cultivar híbrido Danac H180 (Fundación Danac). Estos lotes de semilla se encontraban dispuestos en cuartos de almacenamiento (15 °C, 40 % HR), y fueron seleccionados debido a que representaban una amplia gama de tiempos transcurridos desde su cosecha, (desde seis meses hasta cinco años), con la finalidad de incluir en el estudio semillas con distintos niveles de vigor. De cada lote de semilla se obtuvieron cinco submuestras de aproximadamente 100 g. La semilla colectada en cada lote fue pasada a través de un homogeneizador tipo Boerner (Seedburo), tomándose una muestra compuesta de 500 g que fue enviada al LCGS en bolsas de papel debidamente identificadas.

Prueba de germinación (PG). De cada lote de semilla se establecieron 4 réplicas de 50 semillas en una cámara de germinación Seedburo®, siguiendo la metodología para pruebas de germinación de arroz entre papel (ISTA, 2016),

con el conteo de plántulas normales realizado a los 7 días de establecido el ensayo.

Primer conteo de germinación (Pc5). Corresponde al primer conteo de plántulas normales sugerido en la metodología de la PG (ISTA, 2016) a los cinco días de establecida la prueba, con la finalidad de evaluarlo como indicativo del vigor de la semilla. Este conteo se realizó sobre la misma semilla establecida para la PG.

Envejecimiento acelerado (EA). Se definieron tres condiciones de EA constituidas por tres tiempos de incubación a 72, 96 y 120 horas, denotados como EA72, EA96 y EA120, respectivamente, basado en los trabajos de Pereira et al. (2010). Para cada condición de EA se dispusieron dos réplicas de 100 semillas de cada lote (evitando superposición entre las mismas) sobre una malla de 60 mesh dispuesta en una caja de plástico transparente (*gerbox*) con 40 mL de agua destilada, de manera que no entrara en contacto directo con las semillas y permitiese mantener la humedad relativa dentro de la caja.

Las cajas se taparon y se colocaron en una cámara de crecimiento a 42 °C y 100 % de humedad relativa por el tiempo establecido para cada condición. Posteriormente, las semillas se retiraron de la cámara e inmediatamente se sometieron a una prueba de germinación para arroz (ISTA, 2016) con la evaluación a los 7 días, empleando papel absorbente como sustrato.

Emergencia en campo (EC). De cada lote de semilla a evaluar se establecieron tres réplicas de 50 semillas cada una, en un diseño de bloques completos al azar, en el campo experimental del Programa Arroz de Fundación Danac, en un suelo franco arenoso (pH: 5,6; conductividad eléctrica: 0,05 dS/m). El suelo fue preparado con rotocultor, conformándose con el mismo suelo “camas” de 10 cm de alto, un metro de ancho y 10 m de largo. Sobre esta cama se hicieron agujeros de 1,5 cm de diámetro, 3 cm de profundidad y distanciados 3 cm entre sí. Para la siembra, efectuada a inicios de julio del año 2021, en cada agujero se dispuso una semilla y se tapó con suelo suelto. El riego se realizó con el fin de mantener la cama a capacidad de campo permanentemente. A los 14 días se realizó el conteo de plantas normales, de acuerdo al criterio ISTA (2016).

Análisis estadístico. A partir de los resultados de cada método se realizaron análisis de varianza

y pruebas de mínima diferencia significativa (MDS). Se realizó un análisis de regresión entre PG y EC, donde un mayor coeficiente de determinación se consideró como indicativo de una adecuada estimación del vigor de la semilla, bajo las condiciones del LCGS de Fundación Danac. También se realizó un estimado de los coeficientes de correlación de Pearson entre los años de almacenamiento de los lotes de semilla y los valores de PG y EC, considerando un bajo efecto de las diferencias entre los cultivares. Para estos análisis se utilizaron los programas JMP 5.0.1.2 del SAS (Cary, NC, USA) y Excel de Microsoft.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como era de esperarse, la prueba de germinación (PG) generó un mayor promedio que la emergencia en campo (EC) (Cuadro 1), ya que además de la resistencia que opone el suelo a la emergencia, la PG se realiza en condiciones controladas y uniformes, mientras que en campo existen condiciones de mayor estrés (ISTA, 2016). En la PG y EC, al igual que en todos los métodos de evaluación de vigor incluidos en el estudio, se detectaron diferencias significativas entre lotes de semillas (Cuadro 1), lo cual es indicativo de distintos niveles de calidad fisiológica. La asociación entre la PG y la EC fue baja y no significativa con un coeficiente de determinación r^2 de 0,4785 (Figura 1). Esta baja asociación entre PG y EC puede también apreciarse en el Cuadro 1, donde los valores de los tres lotes con mayor germinación en la PG estuvieron entre 93 y 99 %, y sus niveles de emergencia en campo estuvieron comprendidos entre 50,7 y 79,1 %. Esta diferencia entre lotes de semilla con similares niveles de germinación, pero con distintas respuestas a la siembra en campo, es evidencia de los distintos niveles de vigor en dichos lotes, y reafirma la necesidad de disponer de un método que permita evaluar esas diferencias en el potencial de los lotes de semilla para desempeñarse en el campo y que, en ciertos casos, no corresponde a la germinación expresada por el método estándar.

Esta diferencia entre lotes de semilla con similares niveles de germinación, pero con distintas respuestas a la siembra en campo, es evidencia de los distintos niveles de vigor en dichos lotes y reafirma la conveniencia de un

método que permita evaluar esas diferencias en el potencial de los lotes de semilla para desempeñarse en el campo y que, en ciertos casos, no corresponde a la germinación expresada por el

método estándar. Los métodos para la determinación del vigor de la semilla de arroz evaluados mostraron diversos grados de asociación con la emergencia en campo (Figura 2).

Cuadro 1. Porcentajes de germinación de semillas bajo distintos métodos de ocho cultivares de arroz

Cultivar	Prueba de germinación	Emergencia en campo	Primer conteo (5 días)	Envejecimiento acelerado a 42 °C		
				72 h	96 h	120 h
SD20A 2020	99,0	79,1	86,5	99,0	99,0	99,0
SOBERANA 2012	81,0	64,1	50,5	85,0	77,0	70,0
MD248 2020	83,5	58,0	35,0	88,5	78,0	73,5
SD20A 2019	85,5	56,0	84,0	83,5	77,0	85,5
SD20A 2017	94,0	53,3	80,5	80,0	66,5	64,0
MD248 2017	93,0	50,7	62,0	94,5	91,0	96,5
SD20A 2015	79,0	46,7	57,5	71,0	77,5	69,0
DANAC H180	70,0	36,7	47,5	58,0	45,5	72,0
Promedio	85,6	55,6	62,9	82,4	76,4	78,7
Probabilidad (<i>P</i>)	0,0002	0,0381	<0,0001	<0,0001	0,0026	0,0001
MDS ($\alpha=0,05$)	12,2	36,1	9,7	13,3	29,1	14,3

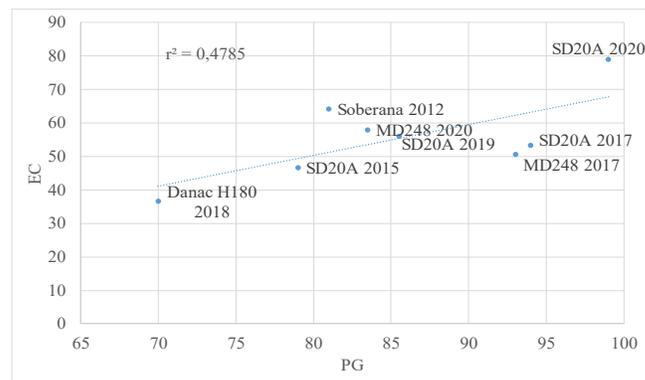


Figura 1 Asociación entre la prueba de germinación estándar (PG) y emergencia en campo (EC) de semillas de ocho cultivares de arroz

En los gráficos de la Figura 2 se observa una asociación positiva entre el porcentaje de plántulas normales en campo y los obtenidos con cada uno de los cuatro métodos de evaluación de vigor en el laboratorio. Los métodos de 72 y 96 horas de envejecimiento acelerado generaron coeficientes de determinación mayores y significativos ($r^2 = 0,6669$ y $0,5809$, respectivamente), lo que demuestra que estas condiciones produjeron una respuesta en los distintos lotes de semilla que se correspondió mejor con el comportamiento en campo, en comparación con el primer conteo ($r^2 = 0,1753$) y al envejecimiento acelerado por 120 horas ($r^2 = 0,2256$). La correlación resultó

significativa para estos dos métodos; entre estos, el envejecimiento acelerado por 72 horas produjo una menor dispersión de los puntos alrededor de la recta de regresión, y también un mayor coeficiente de determinación (r^2), explicando cerca del 67 % de la variabilidad de los datos.

Estos resultados muestran que, entre los cuatro métodos utilizados para la evaluación del vigor de lotes de semilla de arroz y bajo las condiciones donde se llevó a cabo la prueba, el envejecimiento acelerado por 72 horas fue el que permitió observar un comportamiento que se correspondió de mejor manera con el comportamiento en campo. Patin y Gutorsom (2005) probaron

distintos métodos para la evaluación de vigor en semillas de arroz, incluyendo el envejecimiento acelerado (42 °C por 96 horas) que, junto a los métodos en frío, permitió una mejor discriminación entre los lotes de semilla evaluados. La técnica de envejecimiento acelerado ha sido también utilizada en el estudio de la base genética del vigor de la semilla en arroz; Zhou et al. (2020) y Zhou et al. (2022) usaron la incubación a 42 ± 2 °C y 100 % de humedad relativa por 6 días (144 horas) para evaluar el vigor de la semilla de diversos genotipos de arroz, tanto silvestres como modificados genéticamente en la expresión del gen *miR164c*; en ambos casos la técnica permitió diferenciar distintos niveles de

expresión del vigor, lo que demuestra su utilidad en la evaluación de esta característica.

La correlación entre los años de almacenamiento y los resultados de la PG ($r = -0,287$; $P = 0,490$) y los de EC ($-0,097$; $P = 0,817$) fue baja y no significativa (Cuadro 2), lo cual indica que existen otros factores además del tiempo de almacenamiento que incidieron en la germinación de la semilla de arroz. El genotipo e incluso el ambiente en el cual se produjeron las semillas se encuentran entre los factores que afectan su desempeño en cuanto a vigor y establecimiento en campo (Höfs et al., 2004; Rosental et al., 2016; Zhou et al., 2022).

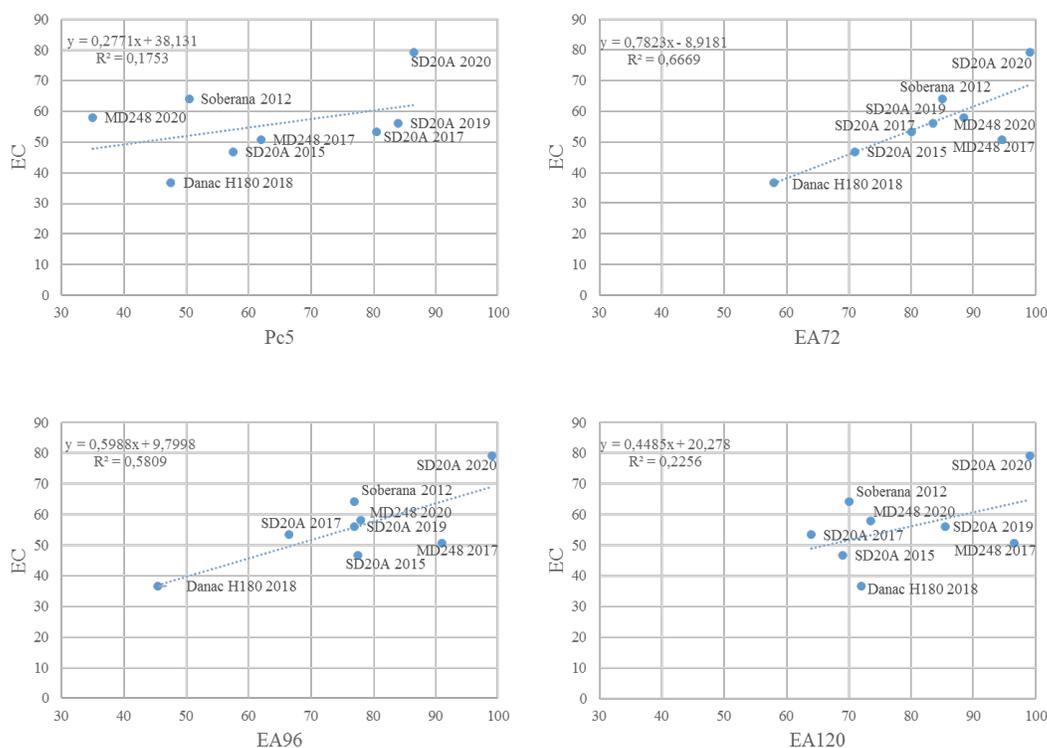


Figura 2. Regresión de la emergencia en campo (EC) y la germinación obtenida en cuatro métodos para la evaluación de vigor en semilla de arroz, como variables regresoras. (Pc5: primer conteo; EA72, EA96 y EA120: envejecimiento acelerado a 42 °C por 72, 96 y 120 horas, respectivamente)

Cuadro 2. Análisis de correlación entre el tiempo de almacenamiento de la semilla de arroz y los porcentajes de germinación y emergencia en campo

T	0,5	8,0	0,5	1,0	3,0	3,0	5,0	2,0	r	P
PG	99,0	81,0	83,5	85,5	94,0	93,0	79,0	70,0	-0,287	0,490
EC	79,1	64,1	58,0	56,0	53,3	50,7	46,7	36,7	-0,097	0,817

T: tiempo de almacenamiento en años; PG: porcentaje de germinación; EC: porcentaje de emergencia en campo
r: coeficiente de correlación de Pearson; P: probabilidad estadística

CONCLUSIONES

Los resultados permiten considerar al envejecimiento acelerado, específicamente la incubación a 42 °C por 72 horas, como una alternativa de interés en la evaluación del vigor en semillas de arroz para las condiciones de manejo y condiciones del terreno de siembra.

LITERATURA CITADA

1. AOSA (Association of Official Seed Analysts). 1983. Seed Vigor Testing Handbook, Contribution No. 32 to the Handbook on Seed Testing.
2. Elías, S. 2018. The importance of using high quality seeds in agriculture systems. *Agri Res & Tech: Open Access J* 15(4): 1-2
3. FAO (Food and Agriculture Organization). 2021. FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (consulta septiembre 2021).
4. Ferguson, J. 1993. AOSA Perspective of seed vigor testing. *Journal of Seed Technology*, 17 (2): 101-104.
5. Höfs, A., S. Peske y A. Barros. 2004. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. *Revista Brasileira de Sementes*. 26 (1): 92-97.
6. INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas). 2004. El Cultivo del Arroz en Venezuela. Comp. Orlando Páez; Edit. Alfredo Romero. Serie Manuales de Cultivo. INIA N° 1. Maracay. 202 p.
7. Islam, A.J., J. Delouche y C. Baskin. 1973. Comparison of methods for evaluating deteriorating in rice seed. *Proceedings of Association of Official Seed Analyst* 63: 155-160.
8. ISTA (International Seed Testing Association). 1995. Understanding seed vigor. <https://www.seedtest.org/api/rm/YDEQF7753T8YQ9Q/understanding-seed-vigour-pamphlet.pdf> (consulta julio 2023)
9. ISTA (International Seed Testing Association). 2016. International Rules for Seed Testing. Zurich. Suiza.
10. Marcos-Filho, J. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Sci. Agric.* 72 (4): 363-374.
11. Ortiz, A. y L. López. 2012. El cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía de la UCV. Edición especial: Alcance* 72: 86-108.
12. Patin, A. y T. Gutorsom. 2005. Evaluating rice (*Oryza sativa* L.) seed vigor. *Seed Technology*. 27(1): 115-120.
13. Pereira, A. L., M. Oxley, M. Betemps, B.C. Obes y C. Leal. 2010. Calidad en semillas de arroz. Calidad fisiológica de semillas de arroz almacenadas. *In: INIA Treinta y Tres. Arroz: Resultados experimentales 2009-2010. Treinta y Tres, Uruguay.* <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/9282/1/cap9-p.3-8.pdf>
14. Rosental, L., A. Perelman, N. Nevo, D. Toubiana, T. Samani, A. Batushansky et al. 2016. Environmental and genetic effects on tomato seed metabolic balance and its association with germination vigor. *BMC Genomics* 17:1047.
15. Zhou S., K. Huang, Y. Zhou, Y. Hu, Y. Xiao, T. Chen et al. 2022. Degradome sequencing reveals an integrative miRNA-mediated gene interaction network regulating rice seed vigor. *BMC Plant Biology* 22: 269
16. Zhou Y., S. Zhou1, L. Wang, D. Wu, H. Cheng, X. Du et al. 2020. miR164c and miR168a regulate seed vigor in rice. *Journal of Integrative Plant Biology* 62(4): 470-486.