



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA**

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA PRUEBA DEL pH DEL  
EXUDADO PARA ESTIMAR LA VIABILIDAD Y VIGOR DE LAS  
SEMILLAS DE SOYA (*Glycine max* L).

**Previo a la obtención del título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Autor:**

Branlyn Moisés Terán Ostaíza

**Director de tesis:**

Ing. Agr. M. Sc. Ramiro Remigio Gaibor Fernández.

Quevedo – Ecuador

2015

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **BRANLYN MOISÉS TERÁN OSTAÍZA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

**BRANLYN MOISÉS TERÁN OSTAÍZA**

## **CERTIFICACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS**

El suscrito Ing. Ramiro Gaibor Fernández en calidad de Director de Tesis **CERTIFICO:**

Que la Tesis Titulada. “**Evaluación de la eficiencia de la prueba del pH del exudado para estimar la viabilidad y vigor de las semillas de soya (*Glycine max* L),**” perteneciente al egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica **BRANLYN MOISÉS TERÁN OSTAÍZA**, ha sido revisada y cumple con los requisitos reglamentarios autorizándolo para que continúe con el trámite pertinente.

Atentamente

Ing. Agr. M. Sc. Ramiro Gaibor Fernández  
**Director de Tesis**



**UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA**

**TEMA**

Evaluación de la eficiencia de la prueba del pH del exudado para estimar la viabilidad y vigor de las semillas de soya (*Glycine max* L).

Presentada al Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias como requisito previo para la obtención del título de:

**INGENIERO AGRONOMO**

**TRIBUNAL DE TESIS**

---

**ING. AGR. M. Sc. Alfonso Vasco Medina**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS**

---

**ING. AGR. M. Sc. Cesar Varas Maenza**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

---

**ING. AGR. M. Sc. Ignacio Sotomayor Herrera**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

**QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR**

**2015**

## **AGRADECIMIENTO**

*Al Ing. Agr. M. Sc. Simón Ampuño Muñoz, por orientarme y brindarme todos sus conocimientos, consejos, seguimiento y supervisión continúa del trabajo, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de todo este tiempo.*

*Al Ing. Agr. M. Sc.. Ramiro Gaibor Fernández, Director de mi tesis que me prestó su colaboración en todo momento, y me brindó su apoyo.*

*A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, por brindarme su acogida para adquirir los conocimientos que me servirán para formarme como profesional.*

*Al cuerpo de docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UTEQ, los cuales con sus conocimientos y experiencias impartidas en las aulas me supieron formar e instruir durante toda mi carrera y el tiempo de estudios.*

*Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Tropical Pichilingue, Departamento de Manejo de suelos y aguas y Departamento de Producción y Venta de Bienes y Servicios Agropecuarios, por abrirme sus puertas y brindarme su acogida para realizar mi investigación.*

*Al Ing. Agr. M. Sc. Alfonso Vasco Medina, Presidente del Tribunal de Tesis.*

*Al Ing. Agr. M. Sc. Ignacio Sotomayor Herrera, Miembro del Tribunal de Tesis.*

*Al Ing. Agr. M. Sc. César Varas Maenza, Miembro del Tribunal de Tesis.*

*A la Ing. Betty Rivadeneira, Srta. Virginia Moreira, Agr. Juan Rosero, Sr. Freddy López, por prestarme su ayuda incondicional en cada etapa de mi trabajo.*

*A mis compañeros de aula, por compartir experiencias y brindarme su sincera amistad.*

*A mis familiares cercanos, abuelos, tíos, una especial gratitud por el estímulo y acompañamiento durante este tiempo.*

*Con mucho amor para ustedes está dedicada cada una de estas páginas de mi tesis.*

**Branlyn Terán.**

## DEDICATORIA

*El presente proyecto de tesis está dedicado a mis padres Milton Terán y Sonia Ostaíza por ser pilares fundamentales en mi vida, guiarme con los mejores consejos para poder salir adelante y superar cualquier obstáculo. A mis hermanos Rolando y Gabriela por haber estado conmigo en todo momento y brindarme su apoyo, a todos ellos va esta dedicatoria por depositar su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida.*

**Branlyn Terán.**

# ÍNDICE GENERAL

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
Portada .....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	ii
CERTIFICACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS .....	iii
TRIBUNAL DE TESIS .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN EJECUTIVO .....	xv
CAPÍTULO I: MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN .....	1
1.1 Introducción .....	2
1.2 Problematización .....	3
1.3 Justificación .....	4
1.4 Objetivos.....	5
1.4.1 Objetivo General .....	5
1.4.2 Objetivos Específicos.....	5

1.5 Hipótesis .....	6
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO .....	7
2.1 Fundamentación Teórica .....	8
2.1.1 Generalidades de la Soya.....	8
2.1.2 Atributos de Calidad de Semilla de Soya .....	9
2.1.3 Morfología y Anatomía de la Semilla de Soya .....	10
2.1.4 Pruebas Rápidas para Evaluar la Viabilidad de las Semillas .....	13
2.1.5 Prueba Colorimétrica del pH del Exudado .....	18
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....	23
3.1 Materiales y Métodos .....	24
3.1.1 Localización del Experimento .....	24
3.1.2 Material Genético.....	24
3.1.3 Diseño Experimental y Análisis Estadístico .....	24
3.1.4 Análisis Estadístico .....	25
3.1.5 Variables de Estudio, Registro de Datos y Métodos de Evaluación.....	25
3.1.5.1 Factores en Estudio .....	25
3.1.5.2 Preparaciones de la Solución Indicadora.....	26
3.1.5.3 Evaluación de la Viabilidad y Vigor de las Semillas .....	27
3.1.5.4 Condicionamiento de las Semillas .....	27
3.1.5.5 Perfil Fisiológico de los Lotes.....	27
3.1.5.5.1 Humedad de las Semillas .....	27



3.1.5.5.2 Germinación .....	28
3.1.5.5.3 Conductividad Eléctrica .....	28
3.1.5.5.4 Prueba de Frío sin Suelo .....	28
3.1.5.5.5 Emergencia a Campo .....	29
3.1.5.6 Interpretación y Evaluación de los Resultados .....	29
3.1.6 Tipo de Investigación .....	30
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Resultados y Discusión.....	32
4.1.1 Consideraciones sobre la Preparación de la Prueba .....	32
4.1.1.1 Condición del Agua Destilada .....	32
4.1.1.2 Preparación de las Soluciones.....	32
4.1.1.3 Valores de pH de las Soluciones .....	32
4.1.2 pH de Exudados de Semillas .....	33
4.1.3 Evaluación de la Viabilidad Inicial y Vigor en Semillas de Soya .....	34
4.1.4 Potencial de Germinación de la Prueba del pH del Exudado- Fenolftaleína. ....	36
4.1.4.1 Tiempo de Imbibición.....	37
4.1.4.2 Concentración de la Solución (Carbonato de sodio).....	38
4.1.4.3 Interacción (Tiempos de Imbibición vs Concentración de la Solución) .	39
4.1.5 Correlaciones entre Pruebas .....	40
4.1.5.1 Viabilidad .....	40

4.1.5.2 Vigor.....	42
4.1.6 Consideraciones Finales.....	45
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES .....	47
5.1 Conclusiones .....	48
5.2 Recomendaciones .....	49
CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA.....	50
6.1 Literatura Citada .....	51
CAPÍTULO VII: ANEXOS.....	55

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Valores del pH de las soluciones en diferentes concentraciones de carbonato de sodio. UTEQ, 2015. ....	33
CUADRO 2. Valores del pH de cada color de exudado.....	33
CUADRO 3. Resultados medios de la viabilidad, vigor y humedad en los lotes de semillas de soya. UTEQ, 2015. ....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función del tiempo de imbibición.....	37
Figura 2. Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función de concentración de carbonato de sodio. ....	38
Figura 3. Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función de tiempo de imbibición y concentración de carbonato de sodio. ....	39
Figura 4. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 30 minutos) y la germinación de las semillas. ...	41
Figura 5. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 30 minutos y empleando la solución tituladora de 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la germinación de las semillas. ....	42
Figura 6. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soya embebidas durante 45 minutos con la emergencia en campo. ....	43
Figura 7. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas embebidas durante 45 minutos con la prueba de frío. ....	43
Figura 8. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 45 minutos y empleando la solución tituladora de 2.5 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la emergencia en campo. ....	44
Figura 9. Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 45 minutos y empleando la solución tituladora de 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la prueba de frío. ....	45

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 7.1 Semillas de soya individualmente sumergidas en agua destilada y hervida. ....	56
Anexo 7.2 Color de las celdas luego de aplicar la gota de la solución.....	56
Anexo 7.3 Tonalidad final del exudado luego de mezclar la gota de solución (carbonato de sodio + fenolftaleína) aplicada a las semillas de soya en sumersión. ....	57
Anexo 7.4 Procedimiento para realizar la prueba de frío y germinación.....	57
Anexo 7.5 Envoltura final del pap el y la muestra lista para ingresar al germinador.....	58
Anexo 7.6 Muestra abierta a los 5 días de pasar en el germinador.....	58
Anexo 7.7 Plántulas anormales y normales.....	59
Anexo 7.8 Siembra para ejecutar la prueba de emergencia en campo. ....	59
Anexo 7.9 Prueba de emergencia en campo a los 5 días de establecida.....	60
Anexo 7.10 Carbonato de sodio y fenolftaleína. ....	60
Anexo 7.11 Soluciones con diferente concentración de carbonato de sodio y la solución de fenolftaleína.....	61
Anexo 7.12 Soluciones mezcladas para ser utilizadas en la prueba del pH del exudado. ....	61
Anexo 7.13 Goteros y pinza utilizados para la prueba del pH del exudado. ....	62
Anexo 7.14 Plántulas procedentes de los exudados rosa fuerte, rosa débil y el exudado incoloro.....	62
Anexo 7.15 Análisis de varianza de la prueba del pH del exudado .....	63
Anexo 7.16 Análisis de varianza de la prueba de conductividad eléctrica .....	63

Anexo 7.17 Análisis de varianza de la prueba de frío. ....	63
Anexo 7.18 Análisis de varianza de la prueba de emergencia campo.....	64
Anexo 7.19 Análisis de varianza de la prueba de germinación estándar.....	64

## RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación se llevó a cabo a fin de estandarizar la metodología para conducir la prueba de pH del exudado, fue ejecutada la presente investigación, con el objetivo evaluar la eficiencia de la prueba del pH del exudado para estimar rápidamente la calidad fisiológica de las semillas de soya.

El ensayo fue realizado en el laboratorio básico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, utilizando el diseño completamente al azar con 4 repeticiones, y la prueba de Duncan al 95% de probabilidad para la comparación de medias.

Las semillas de soya fueron sometidas a diferentes tiempos de imbibición y concentración de Carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Para la imbibición, las semillas de soya fueron colocadas enteras en bandejas de plástico con celdas individuales conteniendo en cada una cerca de 2.5 mililitros de agua destilada y hervida durante 30 y 45 minutos a temperatura ambiente. Después de la imbibición de las semillas, se aplicó una gota de la solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  con fenoltaleína al 0.5%.

Para correlacionar la prueba del pH del exudado, se utilizaron las pruebas de germinación estándar, prueba de frío y emergencia en campo. Basándose en los resultados se concluye que: a) La calidad fisiológica de la semilla de soya puede ser estimada por la prueba del pH exudado individual. b) El pH del exudado individual de las semillas embebidas por 30 minutos sobreestimo el valor porcentual cuando comparadas con la prueba de germinación estándar.

El vigor de la semilla de soya puede ser estimado cuando las semillas son embebidas en agua destilada por 45 minutos, con la concentración de 2.8g de carbonato de sodio, el cual presentó alta correlación con la emergencia a campo y la prueba de frío. d) La prueba del pH del exudado, depende del tiempo de imbibición y de la concentración de la solución.

## SUMMARY

This research was performed to standardize the methodology to conduct the pH test of the exudate, it was executed this research, in order to evaluate the efficiency of testing the pH of the exudate to rapidly estimate the physiological seed quality soy.

The trial was conducted in the core laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences at the State Technical University of Quevedo, using completely randomized design with 4 repetitions, and Duncan test 95% chance to compare means.

Soybean seeds were submitted to different concentration imbibition and sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). For imbibition, soybeans were placed in plastic trays whole with individual cells each containing at about 2.5 milliliters of distilled water and boiled for 30 to 45 minutes at room temperature. After soaking the seeds, a drop of phenolphthalein solution  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.5% was applied.

To correlate the exudate pH test, standard germination test, cold test and field emergency they were used. Based on the results it is concluded that: a) The physiological quality of soybean can be estimated by pH test individually exudate. b) The pH of individual seeds embedded exudate for 30 minutes overestimate the percentage value when compared with the standard germination test.

The force of the soybean can be estimated when the seeds are soaked in distilled water for 45 minutes, with the concentration of 2.8g of sodium carbonate, which showed high correlation with field emergency test and cold. d) The pH test exudate imbibition time dependent and the concentration of the solution.



# **CAPÍTULO I**

## **MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN**

## 1.1 Introducción

En un Programa de Producción de Semillas, es muy común el descarte de lotes que no se encuadran dentro de los patrones mínimos de germinación, establecidos para fines de comercialización, principalmente durante las épocas de siembra. Independientemente de otras prácticas, el conocimiento de la calidad es una medida adecuada para evitar perjuicios económicos, principalmente cuando son recibidas semillas inapropiadas para su beneficio.

Las semillas de soya son evaluadas en su calidad fisiológica ya sea por la importancia económica que representan como por la sensibilidad que presentan a las condiciones adversas del ambiente durante la fase de maduración y cosecha, pudiendo en algunos casos ser cosechadas cuando la calidad fisiológica ya está comprometida.

En tal virtud, el conocimiento anticipado de la calidad de las semillas, representan una garantía para el agricultor que requiere de semillas de calidad, para sus siembras; de tal manera que, es de fundamental importancia desarrollar tecnologías que permitan la evaluación rápida y precisa de la germinación y vigor de las semillas.

La rapidez en la evaluación proporciona innumerables ventajas entre las que podemos citar: la posibilidad de descartar lotes de semillas de calidad inadecuada, con la consecuente reducción de costos, aprovechando de mejor manera la mano de obra involucrada en el beneficio de semillas.

## 1.2 Problematización

En nuestro país, la viabilidad de las semillas de soya para su comercialización es determinada exclusivamente mediante la prueba de germinación, la cual es muy utilizada y fácilmente reproducida, ya que es conducida bajo condiciones favorables, que básicamente permiten que el lote exprese su capacidad máxima, cuyos resultados muchas veces difieren de los obtenidos en campo, donde las semillas están expuestas a condiciones adversas. Sin embargo, requiere entre 5 a 8 días para la obtención de resultados, periodo considerado muy largo para los intereses comerciales de las empresas productoras de semillas, que deben tomar decisiones inmediatas para la compra de materia prima en el momento de la cosecha.

La calidad fisiológica de las semillas puede ser evaluada por medio de dos parámetros fundamentales: viabilidad y vigor, los cuales representan diferentes atributos de las semillas. La viabilidad intenta determinar si la semilla se encuentra viva o muerta; el vigor representa atributos de calidad fisiológica, no revelados en la prueba de germinación siendo determinado bajo condiciones de estrés o midiendo la disminución de alguna función bioquímica o fisiológica.

Las pruebas para la evaluación de viabilidad y vigor de las semillas constituyen herramientas importantes para fundamentar la toma de decisiones en un programa de control de calidad de semillas, pero estas pruebas toman mucho tiempo lo cual retrasa el seguimiento de la calidad de lotes principalmente entre la maduración y la próxima siembra.

### **1.3 Justificación**

En un programa de producción de semillas es fundamental garantizar la calidad y abastecimiento de las mismas, por lo tanto se debe contar con técnicas que permitan una rápida y eficiente estimación de la calidad fisiológica de semillas, las cuales deben ser rápidas, de fácil ejecución y de bajo costo, tornando posible su uso a gran escala como pruebas de rutina en Laboratorios Oficiales de Análisis de Semillas y de Empresas productoras particulares.

Por lo tanto la evaluación del potencial fisiológico de las semillas a través de métodos rápidos como la prueba del pH del exudado, agiliza la obtención de información de la calidad de los lotes de semillas en menor tiempo, mediante el descarte de lotes de calidad inferior durante la fase de recepción en la Unidad de Beneficio de Semillas.

En ese contexto, se viene destacando la prueba del pH del exudado como un método simple y de fácil interpretación de los resultados; sin embargo, es una técnica que todavía requiere de estudios para perfeccionar la metodología y su aplicación.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo General**

Evaluar la eficiencia de la prueba del pH del exudado para estimar rápidamente la calidad fisiológica de las semillas de soya.

### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- Estudiar diferentes concentraciones de la solución indicadora que permitan la evaluación rápida de la viabilidad y vigor de las semillas de soya.
- Determinar el efecto del tiempo de inhibición de las semillas sobre la eficiencia de la prueba.
- Relacionar los resultados de la prueba del pH del exudado con los diferentes métodos de evaluación de la calidad fisiológica.

## **1.5 Hipótesis**

La prueba del pH del exudado permite en 30 minutos, estimar la viabilidad y el vigor de las semillas de soya.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

## 2.1 Fundamentación Teórica

### 2.1.1 Generalidades de la Soya

La soya, cuyo nombre científico es *Glycine max*, se cultiva mediante semillas que contienen aceite y proteínas. Los granos de soya son considerados muy versátiles, ya que pueden ser consumidas como semillas de soya, brotes de soya, y asimismo pueden ser procesados para obtener derivados como leche de soya, tofu, salsa de soya y harina. Además, la soya puede ser insumo de productos no comestibles, tales como cera para velas y biodiesel (ISTA, 1985).

La producción de soya predomina en América con un promedio anual de 172'885.867 TM en la última década, lo cual representa el 85% del total mundial. Es necesario mencionar que en cuanto a la superficie cosechada de soya, América también es el continente que sobresale ya que ocupa el 75% del área total destinada a este cultivo; lo anterior resulta en el mejor rendimiento a nivel mundial con un promedio de 2,60 TM/Ha para el mismo período (INEC, 2012).

La superficie cosechada de soya a nivel mundial tiene un promedio de 87'823.918 Ha en el año. En América, continente que reúne el 75% de esta superficie, Estados Unidos, Brasil y Argentina, son los países que más soya cultivan y para el período 2000-2009 registran un promedio conjunto de 62'143.683 Ha. Por su parte en Asia, continente que representa el 21% del área cosechada de soya, China e India ingresan al grupo de los cinco principales países en este rubro y presentan un promedio de 16'901.687 Ha, para el período mencionado (INEC, 2012).



La participación de los países con un área más extensa de soya cosechada y su evolución dentro del período 2000-2009. Estados Unidos encabeza la lista con el 33% a nivel mundial, con un área cosechada promedio de 29`354.835 Ha. Ecuador en el mismo lapso de tiempo, alcanza un 0,05% de la producción mundial, con un área cosechada promedio de 46.618 Ha (INEC, 2012).

### **2.1.2 Atributos de Calidad de Semilla de Soya**

La preocupación de una empresa productora con la calidad de su semilla debe ser constante en el sentido de alcanzarla, mantenerla y determinarla. Los atributos de calidad pueden ser divididos en genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios (Aguirre & Peske, 1992).

La calidad genética envuelve la pureza varietal, potencial de productividad, resistencia a plagas y molestias, precocidad, calidad del grano y resistencia a condiciones adversas de suelo y clima, entre otros. Existen una serie de medidas a ser tomadas para evitar contaminaciones genéticas o varietales y, así mismo, colocar a la disposición del agricultor semillas con características deseadas (Aguirre & Peske, 1992).

En los últimos años, se ha dado bastante énfasis en características genéticas de las semillas que posibiliten un mayor desempeño para su establecimiento en el campo. Algunas de esas características ya fueron o están siendo incorporadas en cultivares de algunas especies como: A) resistencia a la deterioración de campo a través de la incorporación del carácter de dureza de la semilla; B) capacidad de germinar en condiciones de baja disponibilidad de agua (Aguirre & Peske, 1992).

Varios son los atributos de calidad física de la semilla como la pureza física lo cual es una característica que refiere a la composición física o mecánica de un lote de semillas. La humedad es otro factor importante que nos demuestra cual es la cantidad de agua contenida en la semilla esta influye en la actividad metabólica como en los procesos de germinación y deterioro (Aguirre & Peske, 1992).

En las características fisiológicas se consideran, la germinación como la emergencia y desarrollo de las estructuras esenciales del embrión, manifestando su capacidad para dar origen a una plántula normal, bajo condiciones ambientales favorables. Por otro lado, el vigor es el resultado de la conjugación de todos aquellos atributos de la semilla que permiten la obtención de una adecuada población de plantas bajo condiciones de campo, favorables y desfavorables (Corso *et al*, 1976).

### **2.1.3 Morfología y Anatomía de la Semilla de Soya**

La semilla de soya como la mayoría de las leguminosas, está desprovista de endospermo, la forma varía desde casi esférica hasta achatada y alargada, en la mayoría de variedades por lo general son ovaladas (Corso *et al*, 1976), (Bastidas, 1994).

El hilium bien visible, varia de lineal-elíptico a ovalado. En el lado inferior del hilium se encuentra el punto de inserción de la chalaza o rafe. Al lado superior aparece la micrópila como un pequeño punto, siendo en realidad un orificio que atraviesa el tegumento (Muller, 1981).

La región del hilium está formada por el hilium propiamente dicho, micrópila y rafe. El hilium es una cicatriz dejada en la semilla en el punto de unión del funículo con el óvulo, que controla el contenido de agua en su interior, así como, también el metabolismo y contenido de humedad del embrión por la restricción al paso de los gases, tal como ocurre en otras semillas de leguminosas (Muller, 1981).

La micrópila es la abertura por donde penetra el tubo polínico, formada por los integumentos del óvulo, mientras que el rafe es una protuberancia a lo largo de la semilla, proveniente de la parte del funículo que estaba ligada al óvulo. En las semillas duras el hilium funciona como válvula, la fisura se abre cuando la semilla está en una atmósfera de baja humedad relativa y se cierra cuando la humedad relativa es alta (Esau, 1977).

La semilla de soya presenta un tegumento que envuelve el embrión, el cual está formado por dos cotiledones, una plúmula y un eje hipocótilo-radícula. La punta del eje hipocótilo-radícula se localiza debajo de la micrópila (Verneti & Gastal, 1979).

De acuerdo con Peske & Pereira (1983) el tegumento de la semilla de soya es marcado por el hilo y juega un papel importante en el control de la absorción de agua y protección contra microorganismos, además de funciones como soporte mecánico.

El tegumento, testa o cobertura seminal es relativamente delgado, similar al de otras leguminosas cultivadas como arveja y fréjol pero con ciertas diferencias específicas en su estructura (Muller, 1981). El tegumento de soya presenta tres capas distintas: epidermis, hipodermis y la capa de parénquima interno (Sediyama, Reis, & Destro, 1981), (Peske & Pereira, 1983).

La epidermis consiste de una única camada de células esclerificadas con paredes celulares finas en las extremidades y gruesa en el centro, generando grandes espacios intercelulares. El parénquima consiste de seis a ocho camadas de células achatadas con paredes celulares finas (Nedel, 2005).

Las células palisádicas (epidermis) forman una capa continua envolviendo a la semilla con excepción del hilium, donde aparece una segunda capa palisádica, esa camada externa de células se origina del integumento externo del óvulo. En el hilium, la segunda capa proviene del funículo. La capa palisádica está constituida de células esclerenquimatosas llamadas macroesclerideos (Esau, 1977).

Las capas palisádicas son importante para la absorción de agua por las semillas ya que dependiendo de su constitución química, arreglo y sustancias intercelulares la semilla puede embeber agua. Cuando las semillas no absorben agua debido a la impermeabilidad del tegumento son llamadas duras (Sediyama, Reis, & Destro, 1981).

La parte más interna del tegumento es pluricelular, esas células son tangenciales a la superficie del tegumento y se caracteriza por poseer una fina pared celular y ausencia de protoplasma. Se distribuyen uniformemente a través del tegumento de la semilla con excepción el hilium, donde se presentan en una disposición tricelular. El tegumento representa entre el 8 y 9% del total del peso de la semilla, pudiendo alcanzar hasta el 12%, en semillas pequeñas la razón superficie/volumen es mayor (Sediyama, Reis, & Destro, 1981).

El embrión consiste de dos grandes cotiledones suculentos, la plúmula con dos hojas primarias bien desarrolladas, hipocófito, epicófito y radícula (Bastidas, 1994) (Muller, 1981) (Sediyama, Reis, & Destro, 1981). Por causa del almacenamiento de sustancias de reserva en los cotiledones, estos ocupan casi la totalidad del volumen interior de la semilla y representan la parte más pesada. Los cotiledones en su parte externa, están cubiertos de células pequeñas, las epidérmicas llenas de aleurona, con cutícula fina y estomas.

La plúmula tiene un largo de 2mm aproximadamente, presenta dos hojas simples, opuestas, cada una con un par de estípulas en la base. En el eje hipocófito-radícula tiene una longitud de 5mm, siendo un poco achatado en la superficie externa el cual está en contacto con el tegumento de la semilla (Muller, 1981).

La radícula localizada en la extremidad del eje embrionario consiste de primordios parenquimáticos que producen un grupo de primordios que originan la cofia, la epidermis y el cortex. Los sistemas de tejidos presentes en el hipocófito son la epidermis, el cortex y la estela (Corso, et al., 1976) (Verneti & Gastal, 1979) (Sediyama, Reis, & Destro, 1981).

#### **2.1.4 Pruebas Rápidas para Evaluar la Viabilidad de las Semillas**

Existe la posibilidad de que lleguen a la UBS (Unidad de Beneficio de Semilla) lotes de semillas con baja viabilidad (germinación). La presencia de estos lotes, o su permanencia prolongada en la planta, es indeseable. Para evitar estas situaciones existen algunas pruebas rápidas que ayudan al operador de la UBS determinar la calidad de un lote (Aguirre & Peske, 1992).

Peske et al (2005) mencionan que un Control Interno de Calidad (CIC) básicamente consiste en los registros y parámetros que el productor de semillas utiliza con el objetivo de conocer la historia de cada lote de semillas. El CIC envuelve la elección de la semilla, determinación de humedad, pruebas rápidas de viabilidad, germinación, vigor, pureza, eficiencia y eficacia de los equipos y métodos a utilizarse.

La necesidad de contar con métodos rápidos para estimar o predecir el comportamiento germinativo de las semillas ha sido reconocida durante mucho tiempo. En la actualidad, se ha intensificado la búsqueda sistemática y científica para desarrollar tecnología que permita evaluar con precisión la calidad fisiológica de las semillas y que además puedan implementarse en las diversas fases del sistema de producción tales como: siembra, cosecha y otras etapas de la producción y beneficio de semillas (Marcos Filho, Cicero, & Silva, 1987).

Las pruebas rápidas generalmente se basan en la coloración de los tejidos vivos de las semillas, en función de alteraciones en la actividad respiratoria o en la permeabilidad de las membranas, evaluando aspectos relacionados con la liberación de metabolitos durante la imbibición de las semillas. La rapidez en la evaluación de la calidad de las semillas permitirá tomar decisiones anticipadas durante las operaciones de cosecha, recepción, beneficio y comercialización (Menezes, 2001).

Existen algunas alternativas en las pruebas de vigor como la sumersión en agua y la del pH del exudado. Estos procedimientos presentan en común una reducción del tiempo mínimo necesario para la obtención de resultados, normalmente menor que lo estipulado en los procedimientos regulares de las pruebas de vigor (Vieira *et al*, 2011).

El mismo autor menciona que estas pruebas evitan o descartan las semillas que aparentemente no encuadran en los padrones mínimos de germinación e impiden el almacenamiento innecesario de lotes con bajo vigor y viabilidad, lo cual es una ayuda en el control de calidad de una UBS (Santos *et al*, 2011).

Muchos de los métodos más promisorios y de éxito para estimar rápidamente la viabilidad de las semillas son en esencia pruebas para enzimas específicas o grupos de enzimas. La prueba de tetrazolio basada en la actividad de las enzimas deshidrogenases, presenta buenos resultados; sin embargo, requiere que el analista sea altamente especializado y tiempo necesario para su ejecución (Custodio, 2005).

Según Piana *et al* (1992) durante la deterioración de las semillas ocurre la pérdida de la integridad de las membranas en las organelos que componen las células, como consecuencia de lo cual hay liberación de iones, azúcares y metabolitos en general durante el proceso de la imbibición, en cantidades diferentes en función del grado de exteriorización de las semillas. Esta situación posibilitó el empleo de pruebas rápidas para evaluar la viabilidad.

Como el sistema de membranas celulares es la última estructura en organizarse antes de la madurez fisiológica, es la primera en exhibir las alteraciones degenerativas que caracterizan a la deterioración. Amaral (1991) indica que la falta de integridad de las membranas puede propiciar lixiviación de azúcares, aminoácidos, proteínas, electrolitos, enzimas mitocondriales y otras sustancias solubles en agua.

Por su parte Woodstock (1973), destacó que la lixiviación de metabolitos por las semillas, está inversamente relacionado con su vigor, en base a tres factores: refleja la pérdida de integridad de las membranas, representan la pérdida de alimentos esenciales componentes de la célula y puede favorecer la presencia de microorganismos.

Métodos basados en la lixiviación de electrolitos presentes en el exudado de las semillas, han recibido mucha atención por ser rápidos y fáciles de evaluar, entre los cuales se destaca el método que mide la conductividad o la resistencia del exudado de las semillas al paso de la corriente eléctrica, luego que las semillas permanecieran en agua por un determinado período de tiempo (Matthews & Bizadnockc, 1968).

La conductividad eléctrica, basada en la permeabilidad de las membranas, ha mostrado buena relación con la emergencia de plántulas en campo y la separación de lotes en diferentes niveles de calidad, demostrando ser un procedimiento rápido y simple para la determinación de la calidad fisiológica de las semillas (Custodio, 2005).

Esta prueba puede ser conducida en semillas individuales o un sistema masal, este último presenta la desventaja de no distinguir en la muestra semillas de alta calidad, muertas o de calidad regular, para minimizar ese problema se recomienda escoger las semillas excluyendo aquellas dañadas o quebradas (Chavéz, 1995).

Según Diaz (1994), la concentración total de electrolitos liberados por las semillas durante la imbibición ha sido evaluada indirectamente, mediante la conductividad eléctrica. Sin embargo, considerando que una porción significativa de esos electrolitos está representada por varios iones orgánicos, algunos estudios han sido efectuados para determinar la liberación de cationes específicos por semillas, durante la imbibición.

Oliveira (1990), constató que algunos cultivares de soya presentaron correlación significativa entre la pérdida de germinación y el flujo de iones de las semillas embebidas. El autor cuantificó la presencia de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  medidos en el exudado de las semillas después de 90 minutos de inmersión en agua ionizada a 28°C.



Lott *et al* (1991) cuantificaron el total de iones de K, Mg, Cl, Ca y Mn en agua de imbibición de semillas intactas o en partes aisladas de estas, los resultados indicaron que el K fue, el elemento liberado en mayor cantidad, mientras que el Mn fue el menos lixiviado. De una manera general podemos indicar que el K ha merecido especial atención, por tratarse del principal ion en términos de cantidad lixiviada, lo cual es utilizado actualmente como un indicador de la integridad del sistema de membranas celulares.

La determinación de la cantidad de K liberado por las semillas, después de un período de imbibición, se presenta como una alternativa promisoría para la obtención de informaciones rápidas sobre la calidad fisiológica de las semillas. Sin embargo, es importante que se desarrolle una metodología definida, estandarizada que permita la reproducción de los resultados (Lott, Cavdek, & Carso, 1991).

Otras pruebas alternativas han sido desarrolladas, las cuales toman en consideración variaciones del pH y procedimientos calorimétricos. Cuando las semillas son colocadas a embeber en agua, ocurre la liberación de azúcares, ácidos orgánicos y también iones, entre los cuales se encuentre el H<sup>+</sup>, que contribuye para acidificar el medio y provocar la disminución del pH; en contrapartida, las semillas menos deterioradas originan exudados con mayores valores de pH (Diaz, 1994).

Fernández *et al* (1984) desarrollaron la prueba de Timerosal, que permitió la determinación de la viabilidad de las semillas de soya en aproximadamente 24 horas, para lo cual los autores colocaron las semillas para embeber individualmente a 20°C. Después de ese periodo fueron adicionadas en cada compartimiento individual de 2 a 3 gotas de un antiséptico de nombre comercial Mertiolate. La reacción originó dos coloraciones: naranja brillante que correspondió a las semillas viables y rojizas a las semillas deterioradas. Los autores indican que las alteraciones observadas en la coloración se debieron al pH de los exudados.

Fernández & Petrini (1984) determinaron la viabilidad de las semillas de soya en un periodo de 18 a 20 horas, para lo cual adicionaron en cada celda individual donde se encontraron las semillas embebidas, una gota de una solución indicadora compuesta de 0.2% de rojo de metilo y 0.1% de azul de metileno. Los exudados que tomaron coloración verde indicó semillas viables ( $\text{pH} > 5,4$ ) y las que tomaron el color azul violeta correspondieron a semillas inviables ( $\text{pH} < 5,4$ ).

Amaral & Peske (1985), utilizando una solución indicadora mixta para evaluar la viabilidad de las semillas embebidas individualmente en agua destilada por un periodo de 20 horas, observaron varias tonalidades de color: verde, café claro, café y una tonalidad intermedia variando de verde para café claro, donde el color verde presentaba estrecha relación con semillas viables y las de color café eran semillas inviables o muy deterioradas y que tales tonalidades diferentes eran debido al pH del exudado de las semillas.

### **2.1.5 Prueba Colorimétrica del pH del Exudado**

La prueba de pH del exudado es un test que fue desarrollado por Amaral y Peske en 1984. Cuando las semillas son colocadas para embeber en agua ocurre liberación de azúcares, ácidos orgánicos e iones  $\text{H}^+$ ; esto último acidifica el medio y causa la disminución del pH del exudado semilla. De esta manera, las semillas deterioradas liberan mayor cantidad de iones  $\text{H}^+$  en consecuencia da lugar a valores más bajos de pH. Por otro lado, las semillas menos deterioradas presentan baja lixiviación y no promueve alteraciones en el pH del medio (Cortina, 2013).

En la última década, investigadores brasileños desarrollaron esta prueba, que está basada en la permeabilidad de las membranas y en la lixiviación de solutos. Para el efecto, pueden ser utilizadas muchas soluciones indicadoras para medir el pH del exudado de las semillas. El principio bioquímico de la prueba se basa en que la organización de los sistemas de membranas a nivel celular en semillas, puede reflejar su estado de deterioración y consecuentemente la calidad fisiológica. Por lo tanto, durante el proceso de imbibición y antes de la reorganización de las membranas hay liberación del contenido citoplasmático (Cortina, 2013).

Diversos estudios resaltan la importancia del desarrollo de pruebas rápidas para la evaluación de viabilidad de semillas, principalmente para aquellas con baja capacidad de almacenamiento y germinación lenta. Por tratarse de un procedimiento simple, la prueba del pH del exudado es un método bioquímico que ha sido utilizada para detectar la reducción de la viabilidad de semillas. El método se basa en reacciones químicas que ocurren en el proceso de deterioración, algunos estudios obtuvieron resultados consistentes para la evaluación de vigor de semillas (Sousa, 2014).

La utilización de semillas de soya con alto potencial fisiológico en aspectos importantes a ser considerado para el aumento de productividad, hace que el control de calidad de semillas debe ser cada vez más eficiente, incluyendo pruebas que evalúen rápidamente el potencial fisiológico y que permitan diferenciación entre lotes (Santos *et al*, 2011).

La liberación de grandes cantidades del ion H contribuye para acidificar el medio, y como el pH bajo tiene efectos negativos sobre la actividad enzimática puede estar inversamente relacionado con la capacidad de germinación de las semillas (Amaral & Peske, 1985), (Amaral A., 1991).

Los autores sugieren además la posibilidad de que el CO<sub>2</sub> está involucrado en la acidificación del exudado, ya que en sus investigaciones el exudado de las semillas muertas o en avanzado estado de deterioración presentan contenidos de CO<sub>2</sub> libre de 116.0 mg/l, en tanto que en el exudado de las semillas viables ese contenido fue de 60.8 mg/l y el agua destilada utilizada contenía 4 mg de CO<sub>2</sub> libre por litro (Amaral & Peske, 1985).

Trabajando con semillas de soya, Amaral & Peske (1984) obtuvieron correlación positiva entre viabilidad y pH del exudado de las semillas embebidas en agua durante 30 minutos, a la que se le adicionó una gota de solución de carbonato de sodio y una gota de fenolftaleína, lo cual permitió distinguir las semillas viables de las no viables. Para las semillas viables el exudado tomo coloración rojo fuerte y para las no viables, el exudado permaneció sin color.

Relacionando la germinación y el pH del exudado de las semillas de soya colocadas en agua destilada por 20 horas a 25<sup>0</sup>C, encontraron una estrecha relación entre las dos variables, determinando además un valor del pH de 5.8, arriba del cual se encuentran las semillas viables y abajo las no viables (Amaral A., 1991).

Tyagi (1993) trabajando con semillas de tres variedades de soya cosechadas en dos épocas diferentes, utilizó la prueba de pH del exudado para determinar su viabilidad, y constató que tanto la prueba de germinación como la prueba de fenolftaleína fueron capaces de detectar una reducción en la germinación de semillas cosechadas tardíamente.

Barros & Marcos (1990), utilizaron la prueba del pH del exudado para evaluar cinco épocas de cosecha en siete lotes de semillas de soya y obtuvieron una buena correlación entre la emergencia a campo y la prueba de fenolftaleína, en 30 minutos de imbibición.

Montenegro (1991) evaluó la calidad de semilla de soya, utilizando diferentes períodos de imbibición y concentraciones de la solución de carbonato de sodio y fenolftaleína, concluyendo que la viabilidad y el vigor de las semillas puede ser estimado por la prueba del pH del exudado en 30 y 45 minutos de imbibición, respectivamente, utilizando una gota de solución de 2,8 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ /litro de agua destilada más fenolftaleína al 0.5 por ciento.

La metodología descrita es específica para semilla de soya, pero se está empleando con algunas modificaciones en semillas de fréjol, algodón, maíz, trigo, café, arveja, etc, obteniéndose resultados muy buenos en cuanto la evaluación de la viabilidad (Amaral & Peske, 1985).

En el estudio sobre la prueba de pH del exudado de semillas de soya para determinar el potencial fisiológico de estas, fue colocada una semilla en cada celda con 2 ml de agua destilada, durante 30 min, a 25 °C. Después se añadió una gota de fenolftaleína y una de carbonato de sodio, observándose que había una relación entre la prueba de pH del exudado con la prueba de germinación (Cortina, 2013).

Los fundamentos fisiológicos de la relación entre la prueba del pH del exudado y la calidad fisiológica de las semillas, todavía no han sido totalmente dilucidados. En el proceso de imbibición de agua por las semillas, salen muchos materiales como K, Ca, Cl, Mg, entre otros, que al permanecer en el agua de imbibición forman un ácido débil (Chavéz, 1995).

Este material propiciará que la solución formada tenga un poder tamponante que será más fuerte cuando mayor la cantidad de material lixiviado. De manera que, cuando se adiciona Carbonato de sodio al exudado (agua de imbibición más lixiviado) de las semillas que han lixiviado poco hará que el pH se eleve, mientras que el exudado de las otras semillas permanecerá inalterado (Barros & Marcos Filho, 1990).

Por otra parte, el poder tamponante permite diferenciar el pH entre los exudados de las semillas vivas y muertas. El exudado de una semilla viva al recibir una base, eleva su pH para valores superiores a 8; en tanto que el exudado de una semilla muerta permanece con su pH alrededor de 7 (Barros & Marcos Filho, 1990).

Con esa magnitud es posible detectar la diferencia a través de soluciones indicadoras de pH, entre la más utilizada es la fenolftaleína, la que toma un color rojo cuando el pH está arriba de 8 e incolora cuando es inferior, lo que determina que el exudado incoloro se considere como semilla muerta y el rojo como semilla viva (Peske & Amaral, 1994).

## **CAPITULO III**

# **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **3.1 Materiales y Métodos**

### **3.1.1 Localización del Experimento**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Básico de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizado en el Campus Universitario “Manuel Haz Alvarez” ubicado en el km 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> vía Quevedo – Santo Domingo.

### **3.1.2 Material Genético**

Se utilizaron tres lotes de semilla de soya, producidas durante la época seca del 2014. Las muestras de semilla fueron proporcionadas por el Departamento de Producción de Semillas de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP.

### **3.1.3 Diseño Experimental y Análisis Estadístico**

La prueba del pH del exudado fue analizada en un esquema factorial: Soluciones (3), tiempo de imbibición (2), utilizando el Diseño Completamente al Azar con 4 repeticiones.

Para la comprobación de medias de las variables se utilizó la prueba de Duncan al nivel del 95% de probabilidades. Conjuntamente con los resultados estadísticos obtenidos, se determinaron los coeficientes de correlación y regresión lineal simple entre la prueba del pH del exudado de las semillas y la viabilidad y vigor.



### 3.1.4 Análisis Estadístico

#### 3.1.4.1 Esquema del ADEVA para prueba de pH del exudado

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Repeticiones ( $r - 1$ )	3
Tiempos ( $t - 1$ )	1
Soluciones ( $s - 1$ )	2
Soluciones * Tiempos ( $s - 1$ ) * ( $t - 1$ )	2
error	15
<b>Total</b>	<b>23</b>

#### 3.1.4.2 Esquema del ADEVA para pruebas de viabilidad y vigor.

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Repeticiones ( $r - 1$ )	3
Lotes ( $L - 1$ )	2
error	6
<b>Total</b>	<b>11</b>

### 3.1.5 Variables de Estudio, Registro de Datos y Métodos de Evaluación

#### 3.1.5.1 Factores en Estudio

Se estudiaron los siguientes factores:

**Concentraciones de la solución:** 2,5 g, 2,8 g y 3,1 g de Carbonato de sodio.

**Tiempo de imbibición:** 30 – 45 minutos

### **3.1.5.2 Preparaciones de la Solución Indicadora**

La solución de carbonato de sodio utilizado para la evaluación fisiológica de las semillas de soya, fue preparada de la siguiente manera:

**Solución 1.-** Se preparó mediante la disolución de 2,5 g de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), en un litro de agua destilada y hervida.

**Solución 2.-** Se preparó con 2,8 g de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), en un litro de agua destilada y hervida.

**Solución 3.-** Se preparó con 3,1 g de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), en un litro de agua destilada y hervida.

**Solución de fenolftaleína.-** Para la preparación de la solución de fenolftaleína (0.5%) se disolvió 5 gramos de fenolftaleína ( $\text{C}_{20} \text{H}_{14} \text{O}_4$ ), en 0.5 litros de alcohol etílico absoluto ( $\text{C}_2 \text{H}_5 \text{OH}$ ), más 0.5 litros de agua destilada y hervida.

Inmediatamente se mezcló las 3 soluciones (Carbonato de Sodio) una a una con la solución de Fenolftaleína en partes iguales y se determinó el pH final de la solución.

### **3.1.5.3 Evaluación de la Viabilidad y Vigor de las Semillas**

Las pruebas del pH del exudado fueron relacionados con germinación en papel para viabilidad, y para vigor se relacionó la prueba del pH con la de frío y la de emergencia en campo.

### **3.1.5.4 Condicionamiento de las Semillas**

Las semillas de soya de los diferentes lotes, fueron colocadas enteras a embeber en bandejas plásticas con celdas individuales, utilizando 2.5 ml de agua destilada.

Después de cada periodo de imbibición, se adicionó en cada celda una gota (0,033 g) de la solución ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ) y se agitó con un bastón de vidrio. La imbibición de las semillas fue realizada en condiciones ambiente del laboratorio.

### **3.1.5.5 Perfil Fisiológico de los Lotes**

Paralelamente a la realización de la prueba del pH del exudado, se determinó el contenido de humedad de las semillas, el porcentaje de germinación, prueba de frío, conductividad eléctrica y emergencia a campo.

#### **3.1.5.5.1 Humedad de las Semillas**

El grado de humedad de las semillas para cada lote se determinó por el método indirecto. Para el efecto, se utilizó el determinador marca STEINLITE modelo SB 900, y los resultados fueron expresados en porcentaje.

#### **3.1.5.5.2 Germinación**

La germinación de los lotes de semillas se determinó en base a muestras obtenidas después de la homogenización. La prueba fue conducida en un germinador marca SEEBDURO a una temperatura constante de 25°C. Se utilizó como sustrato papel germinador en forma de rollo, utilizándose cuatro repeticiones de 50 semillas por lote.

La interpretación y conteo de las muestras analizadas fueron relacionadas conforme los criterios establecidos por las Reglas Internacionales de Semillas (ISTA, 1985)

#### **3.1.5.5.3 Conductividad Eléctrica**

Se realizó con cuatro sub-muestras de 50 semillas, las cuales fueron pesadas y posteriormente sumergidas en 75 ml de agua destilada. Los recipientes que contienen la semilla fueron mantenidos en reposo a temperatura ambiente por 24 horas. Al final de ese periodo, se efectuó la lectura de conductividad eléctrica, y los resultados fueron expresados en  $\mu\text{mhos}$  por gramos como lo establecido por Viera & Krzyzanowski (1999).

#### **3.1.5.5.4 Prueba de Frío sin Suelo**

Esta fue realizada con cuatro repeticiones de 50 semillas, uniformemente distribuidas en el sustrato, que consistió de papel toalla previamente humedecido con agua destilada en una proporción de tres veces su peso seco. Los rollos de papel fueron colocados en el interior de fundas plásticas, las que fueron colocadas en un germinador regulado a una temperatura de 10° C donde permanecieron por cinco días. Transcurrido ese periodo, las fundas fueron retiradas y colocadas a germinar a una temperatura de 25° C durante

cuatro días, procediéndose inmediatamente a la evaluación, para lo cual se consideraron solamente las plántulas normales.

#### **3.1.5.5.5 Emergencia a Campo**

Fue realizada con 50 semillas por repetición. La semilla fue colocada en surcos de 1m de largo, separados a 0.30m y a una profundidad aproximada de 0.03m de profundidad. El conteo total de las plántulas emergidas se realizaron entre los 12 – 15 días después de la siembra. Se efectuaron controles de insectos plagas para evitar que corten las plántulas durante la prueba e interfieran en los resultados.

#### **3.1.5.6 Interpretación y Evaluación de los Resultados**

Para facilitar la interpretación y evaluación de los resultados de la prueba del pH del exudado de las semillas, se consideró tres tonalidades:

<b>Tonalidad</b>	<b>Descripción</b>
Rosa fuerte	Semillas viables
Rosa débil	Semillas viables
Incoloro	Semillas no viables

Con la finalidad de comprobar las evaluaciones de la prueba del pH del exudado, las semillas provenientes de coloración rosa fuerte, rosa débil e incolora, fueron previamente lavadas con agua y colocadas a germinar en arena, para la comprobación de los resultados.

### **3.1.6 Tipo de Investigación**

Esta investigación fue de tipo experimental, porque se utilizó el razonamiento hipotético-deductivo, sumándose a esto el empleo de diseño experimental para el análisis de datos. Además se utilizó técnicas de investigación correlacionar, ya que se midió el grado de relación existente entre dos variables.

El estudio realizado acorde a las características del lugar fue tanto de laboratorio como de campo.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **4.1 Resultados y Discusión**

### **4.1.1 Consideraciones sobre la Preparación de la Prueba**

En base en las experiencias de investigaciones anteriores realizadas por Amaral & Peske (1984), Montenegro (1991) que realizaron pruebas preliminares, varias concentraciones y diferentes tiempos de imbibición determinaron las condiciones más adecuadas en relación al pH final de las soluciones. La mayor importancia de las consideraciones observadas para el desarrollo adecuado de las pruebas son las siguientes:

#### **4.1.1.1 Condición del Agua Destilada**

Se probaron aguas destilada de dos laboratorios para encontrar la de mejor calidad con valores próximos a pH 7.0. El agua con la que se desarrolló el trabajo presento valores entre 6.50 y 7.00, lo que concuerda con Montenegro (1991). El uso de agua con valores de pH más bajos (ácida) dificulta la lectura para la evaluación de la calidad de la semilla.

#### **4.1.1.2 Preparación de las Soluciones**

Para la preparación de las soluciones se siguió los cuidados y manejos que recomienda Montenegro (1991). De acuerdo a la metodología las soluciones se pueden almacenar por un periodo de 30 días sin ocurrir alteraciones.

#### **4.1.1.3 Valores de pH de las Soluciones**

En el Cuadro 1, se presentan los valores registrados del pH de cada solución utilizada en la prueba, se puede observar el pH cuando están mezcladas y cuando están separadas. Se observa que a medida que se aumenta la concentración de carbonato de sodio, el pH se eleva. Estos resultados son similares a los mencionados por Montenegro (1991).



**CUADRO 1 Valores del pH de las soluciones en diferentes concentraciones de carbonato de sodio. UTEQ, 2015.**

<b>Soluciones</b>	<b>pH</b>
2,5 g Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10,60
2,8 g Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10,68
3,1 g Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10,87

#### **4.1.2 pH de Exudados de Semillas**

Los valores presentados en el cuadro 2, pertenecen al registro de los valores del pH de cada exudado (incoloro, rosa débil, rosa fuerte) después de aplicar la solución indicadora.

**CUADRO 2 Valores del pH de cada color de exudado.**

<b>Color de exudado</b>	<b>pH</b>
Blanco o incoloro	7,08
Rosa débil	7,46
Rosa fuerte o purpura	8,10

La diferencia del pH entre los exudados nos indica que el exudado de una semilla viva al recibir una base (carbonato de sodio) eleva su pH para valores superiores a 8, en tanto que el exudado de una semilla muerta (incoloro) permanece con su pH alrededor de 7. De esta manera es posible detectar la calidad de la semilla a través de soluciones indicadoras de pH y en este caso es la fenolftaleína. Resultados que concuerdan con lo expresado por Amaral & Peske (1984).

### 4.1.3 Evaluación de la Viabilidad Inicial y Vigor en Semillas de Soya

Los resultados de las diferentes pruebas para la evaluación de la viabilidad y vigor de los lotes de soya, se encuentran expresados en el Cuadro 3. Estos valores son los promedios de las 4 repeticiones realizadas.

El contenido de humedad de los lotes estudiados, no se sometieron al análisis estadístico. No obstante, se observa que los datos de la variable no presentaron mucha variación entre los lotes, ya que de acuerdo con Amaral & Peske (1984) y Marcos *et al* (1987), diferencias en el contenido de humedad de las semillas pueden causar alteraciones en los resultados de la prueba del pH del exudado, tornándola imprecisa. Por otra parte, el efecto de la humedad de la semilla durante el proceso, está en estrecha relación con el rápido aumento de la lixiviación de solutos, que influyen de la prueba del pH del exudado (Cortina, 2013).

Los resultados de la caracterización del perfil fisiológico de los lotes utilizados en la presente investigación, determinados por las pruebas de germinación, emergencia campo, conductividad eléctrica, frío y los resultados de las medias del potencial de germinación determinado por el pH del exudado-fenolftaleína se presenta en el cuadro 3.

Se observa que los lotes B y C presentaron mejor nivel de calidad. De igual forma los resultados obtenidos por la prueba del pH del exudado-fenolftaleína presentaron valores porcentuales de viabilidad más elevados en relación a los de la prueba de germinación, es decir que sobrestimaron los resultados.

Comparando los resultados de la prueba del pH del exudado-fenolftaleína en los tiempos de imbibición de 30 y 45 minutos con la prueba de germinación, emergencia a campo y frío se observa una mejor aproximación de los resultados entre pH del exudado 2.8 g y 45 minutos de imbibición con emergencia a campo, pH del exudado 2.8 g y 30 minutos de imbibición con germinación.

**CUADRO 3 Resultados medios de la viabilidad, vigor y humedad en los lotes de semillas de soya.  
UTEQ, 2015.**

Lotes	H %	E.C. %	G.E. %	C.E. $\mu\text{s.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$	P.F. %	Concentración de carbonato					
						2,5		2,8		3,1	
						30 min %	45 min %	30 min %	45 min %	30 min %	45 min %
<b>A</b>	11,9	71.0 <b>b</b>	70.0 <b>b</b>	112.5 <b>b</b>	54.0 <b>c</b>	90,5	59,5	88,5	70,5	99,5	92,0
<b>B</b>	11,3	86.0 <b>a</b>	90.5 <b>a</b>	66.6 <b>c</b>	88.5 <b>a</b>	91,0	91,5	96,5	86,5	98,5	91,5
<b>C</b>	10,7	77.5 <b>b</b>	93.5 <b>a</b>	135.8 <b>a</b>	82.5 <b>b</b>	90,0	67,0	96,5	78,0	96,5	81,0

**H** = Humedad

**E.C.** = Germinación en Campo.

**G.E.** = Germinación Estándar.

**C.E.** = Conductividad Eléctrica.

**P.F.** = Prueba de frío.

#### 4.1.4 Potencial de Germinación de la Prueba del pH del Exudado-Fenolftaleína.

En el cuadro 4, se presenta el resumen del análisis de variancia y de la prueba de Duncan de los datos referentes al potencial de germinación obtenidos en la prueba de pH del exudado-fenolftaleína de las semillas de soya. Los tiempos de imbibición, soluciones e interacción (tiempo\*solución), alcanzaron significancia estadística en el nivel 0,05 con un 3,5 % del coeficiente de variación.

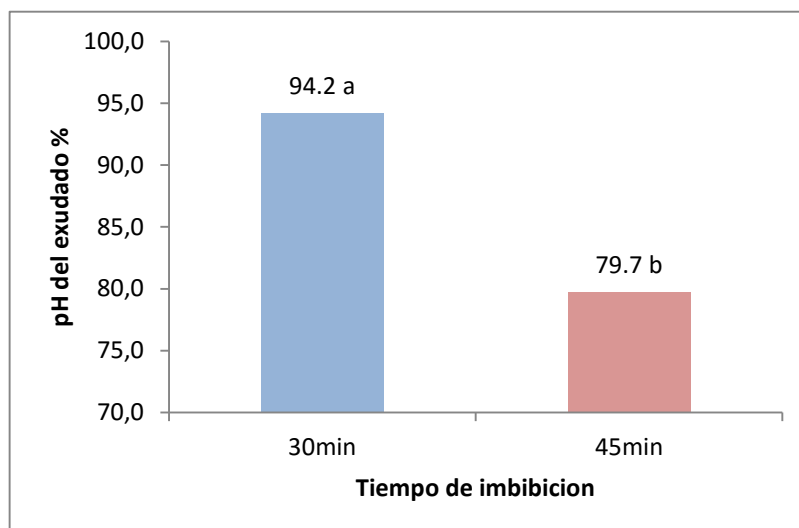
**Cuadro 4 Promedios porcentuales del potencial de germinación (%) determinados por la prueba de pH del exudado con diferentes soluciones y tiempos de imbibición, para semillas de soya. UTEQ, 2015.**

<b>Factores</b>	<b>Promedios *</b>
<b>Tiempo de imbibición</b>	
T1: 30 minutos	94.2 a
T2: 40 minutos	79.7 b
<b>Solución</b>	
S1: 2,5 g carbonato de sodio	81.6 c
S2: 2,8 g carbonato de sodio	86.1 b
S3: 3,1g carbonato de sodio	93.2 a
<b>Interacción (Tiempo*Solución)</b>	
T I = T1S1: 30 minutos+ 2.5 g carbonato de sodio	90.5 b
T II = T1S2: 30 minutos+ 2.8 g carbonato de sodio	93.8 ab
T III = T1S3: 30 minutos+ 3.1 g carbonato de sodio	98.2 a
T IV = T2S1: 40 minutos+ 2.5 g de carbonato de sodio	72.7 c
T V = T2S2: 40 minutos+ 2.8 g carbonato de sodio	78.3 c
T VI = T2S3: 40 minutos+ 3.1 g carbonato de sodio	88.2 b
Promedio	87.0
C.V. (%)	3.5

\* Promedios con la misma letra en cada grupo, no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

#### 4.1.4.1 Tiempo de Imbibición

El estudio del tiempo de imbibición de las semillas de soya (Figura 1), determinó que el tiempo de 30 minutos propició el mayor potencial de germinación con 94.2%, superior estadísticamente al tiempo de imbibición de 45 minutos que registró el 79.7%. Los resultados concuerdan a los encontrados por Amaral & Peske (1984) y Montenegro (1991) los que observaron correlación positiva entre viabilidad y pH de exudado de semillas de soya embebidas en agua, donde determinaron el periodo de 30 minutos de imbibición como óptimo.



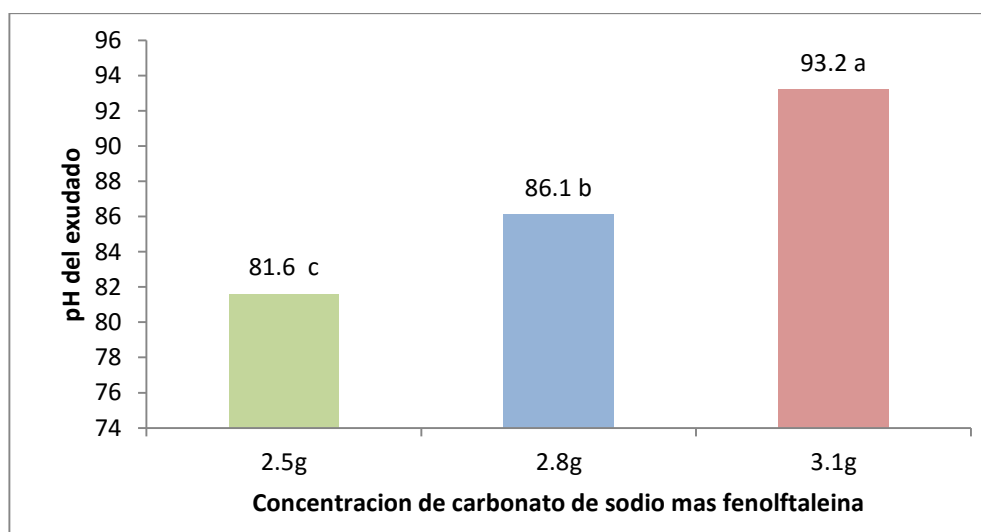
**Figura 1.** Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función del tiempo de imbibición.

Es importante destacar que para semillas de soya, tiempos de imbibición superiores a 30 minutos permiten mayor lixiviación de exudados, lo que nos indica que con el aumento del periodo del tiempo de imbibición de las semillas, hay una disminución del potencial de germinación. Este hecho sugiere que con el aumento del periodo de imbibición, se produce también un aumento de la lixiviación de varios iones de las semillas, principalmente de  $H^+$ , lo que ocasionará una reducción del pH del agua de imbibición de la semilla.

Al respecto, Amaral & Peske (1984) reportaron que cuando las semillas son sumergidas para embeber en agua, mayor o menor cantidad de iones  $H^+$  son liberados, dependiendo de su estado de deterioración, donde las más deterioradas presentan mayor lixiviación de esos iones, consecuentemente, exudados más ácidos. Por el contrario, semillas menos deterioradas originarán exudados con valores de pH más elevados. Por lo tanto, como la imbibición es progresiva, determinar el tiempo adecuado de imbibición es fundamental para la ejecución de la prueba (Marcos Filho, Cicero, & Silva, 1987).

#### 4.1.4.2 Concentración de la Solución (Carbonato de sodio)

El efecto de la concentración de la solución indicadora (Figura 2) presentó diferencia significativa para estimar el potencial de germinación, Cuando se utilizó la solución de 3,1g de carbonato de sodio, se alcanzó el mayor potencial de germinación con 93.2%, superior estadísticamente a las soluciones 2,5 y 2,8 g de carbonato de sodio, que obtuvieron 81.6 y 86.1%, respectivamente, con igualdad estadística entre ellas.

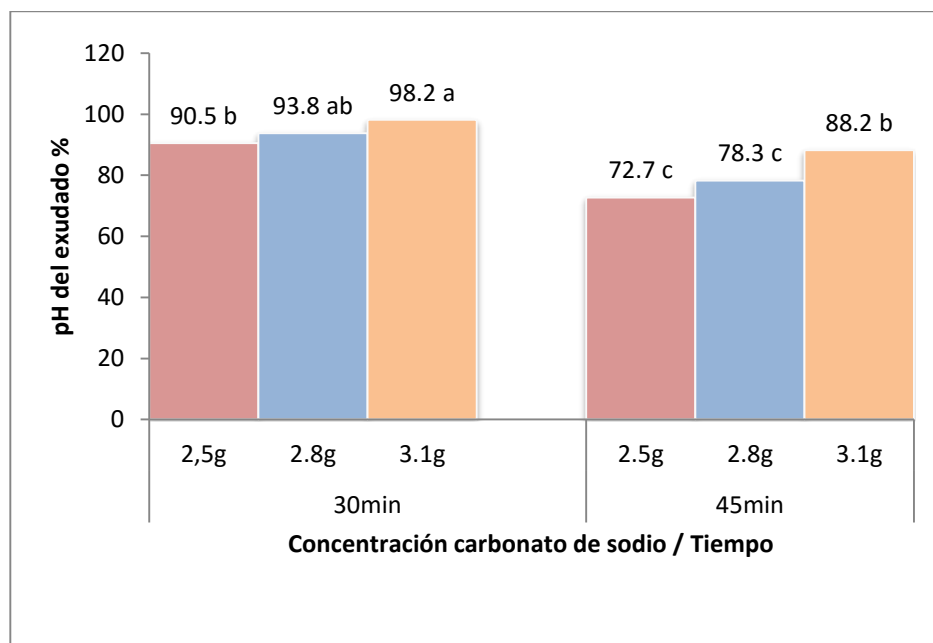


**Figura 2.** Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función de concentración de carbonato de sodio.

Los resultados evidenciaron un aumento en el potencial de germinación con el incremento de las concentraciones de carbonato de sodio, de tal forma que la concentración de la solución indicadora que mejor caracterice el estado de deterioración de un lote de semillas va a depender del tiempo de imbibición al que serán expuestas las semillas.

#### 4.1.4.3 Interacción (Tiempos de Imbibición vs Concentración de la Solución)

Los resultados indican que la interacción solución/ tiempo de imbibición presentaron una relación de dependencia entre los dos factores estudiados, que influyeron en la obtención de los resultados relativos al potencial de germinación de las semillas de soya.



**Figura 3.** Porcentaje medio de la viabilidad de semillas de soya en función de tiempo de imbibición y concentración de carbonato de sodio.

Las soluciones 2,8 y 3,1 g de carbonato de sodio con 30 minutos de imbibición de las semillas en agua destilada registraron el mayor potencial de germinación de semillas con 98,2% y 93,8%, respectivamente, superior estadísticamente a la solución 2,5 g de carbonato de sodio con potencial de germinación de 90,5% y al tiempo de imbibición de 45 minutos con las soluciones 2,5; 2,8; y 3,1 g de carbonato de sodio, que alcanzaron porcentajes entre 72,7, 78,3 y 93,8%, respectivamente (Figura 3).

Independientemente del tiempo de imbibición y de la concentración de la solución de carbonato de sodio, el pH del exudado sobreestimó el potencial de germinación de las semillas, cuando comparadas con las pruebas utilizadas para determinar la calidad fisiológica inicial de los lotes utilizados. Situación similar fue observada por Barros & Marcos (1990) trabajando con semillas de soya, observando que con el tiempo de 20 minutos de imbibición los valores obtenidos fueron numéricamente superior en comparación a los obtenidos con 30 minutos, principalmente porque podrían surgir dudas en la interpretación de la viabilidad de las semillas colocadas en cada una de las celdas individuales cuando aparecen exudados con coloración rosa débil ya que si esa tonalidad no está bien caracterizada podría ocasionar errores en la evaluación.

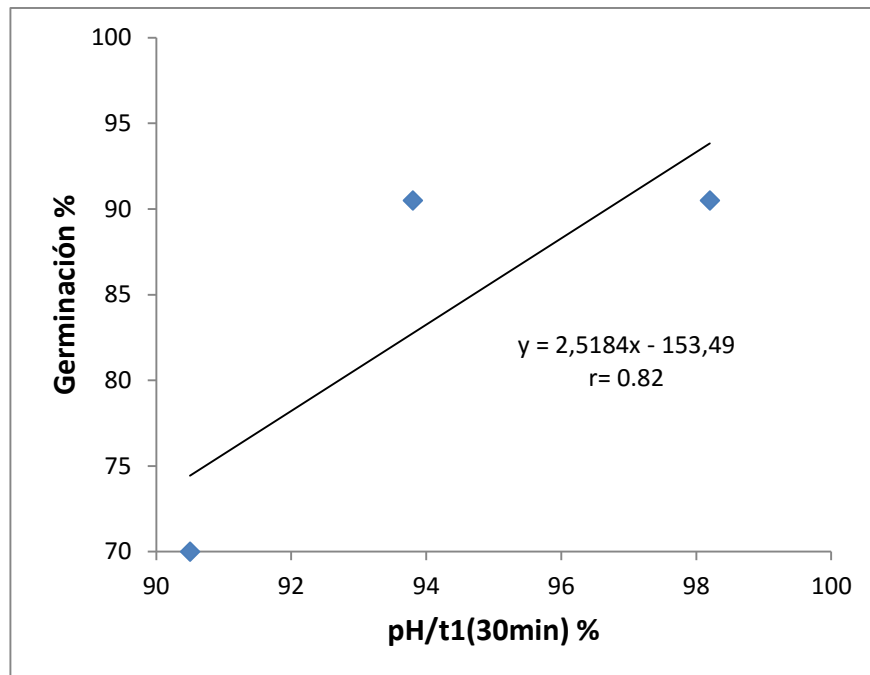
#### **4.1.5 Correlaciones entre Pruebas**

##### **4.1.5.1 Viabilidad**

Al correlacionar los resultados obtenidos a través del pH del exudado individual de las semillas embebidas durante 30 minutos, con el porcentaje de semillas germinables, se observó una tendencia lineal positiva como se puede observar en la Figura 4. Con un coeficiente de correlación de  $r = 0.82$ . Los datos obtenidos de semillas viables en la germinación tienen una buena relación con las semillas de exudado rosa fuerte y rosa débil que se registraron en la

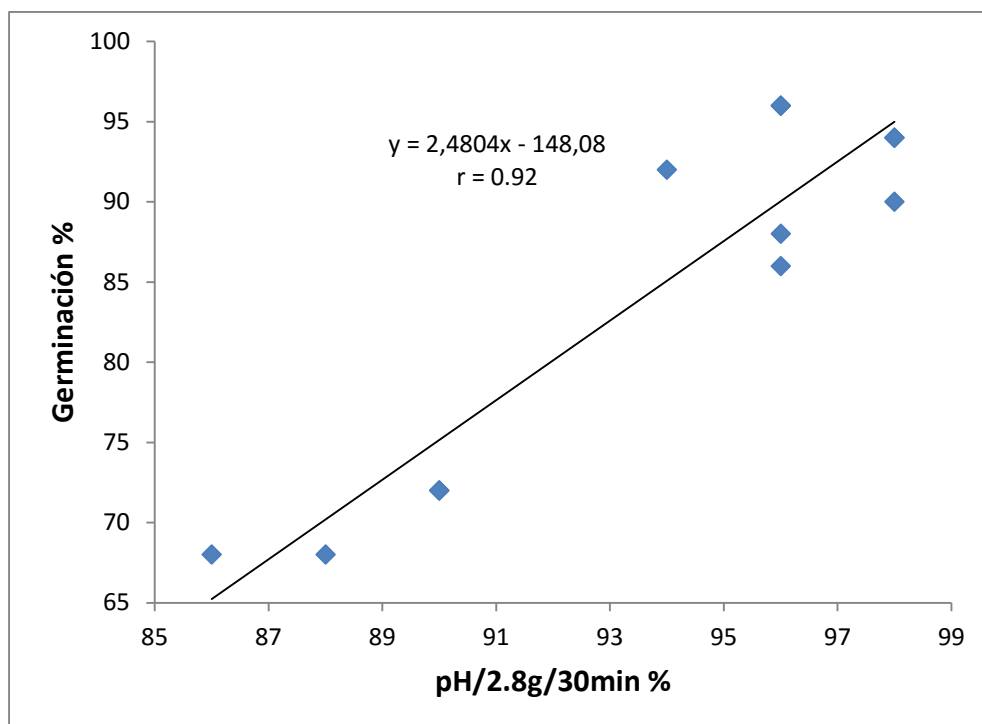


prueba de pH/t1 (30min), esto concuerda con la investigación Amaral & Peske (1984) que concluyeron que fue posible estimar la viabilidad de la semilla de soya en un periodo de tiempo de 30 minutos de imbibición,



**Figura 4.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 30 minutos) y la germinación de las semillas.

Igualmente cuando se relacionaron los resultados obtenidos en la prueba del pH del exudado individual de las semillas embebidas por 30 minutos y empleando la solución de 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%, se obtuvo un coeficiente de correlación más alto  $r = 0.92$ . Los resultados obtenidos de la regresión entre las pruebas mostraron una tendencia lineal positiva como se puede observar en la Figura 5. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Montenegro (1991), que indica que la viabilidad de las semillas de soya puede ser estimada por la prueba del pH del exudado en 30 minutos de imbibición con una concentración de la solución de 2.8g de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%, en partes iguales.

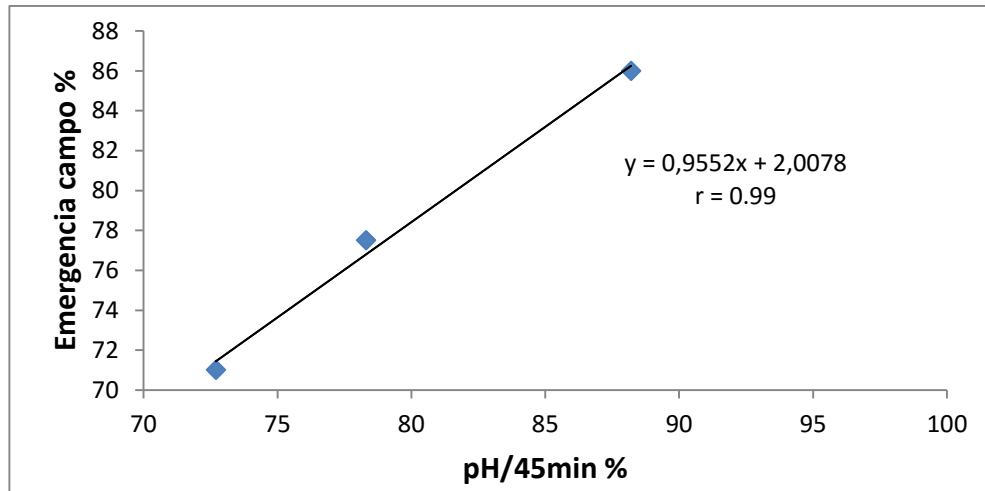


**Figura 5.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 30 minutos y empleando la solución tituladora de 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la germinación de las semillas.

#### 4.1.5.2 Vigor

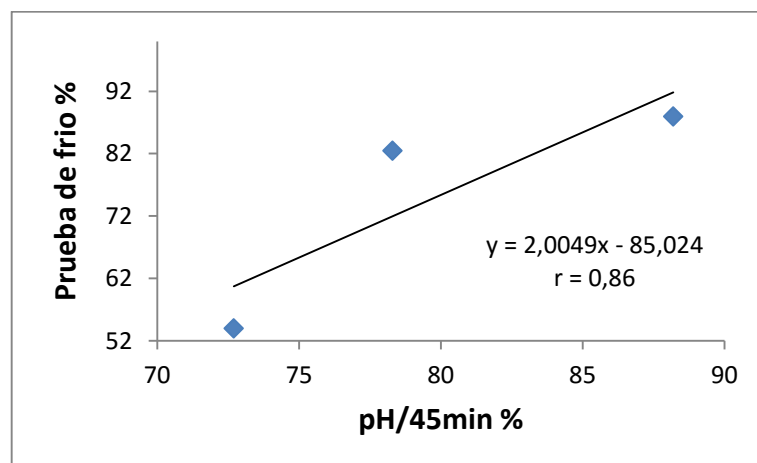
El análisis de regresión entre la prueba de pH del exudado individual de las semillas embebidas durante 45 minutos y emergencia a campo, mostró una tendencia lineal positiva con un coeficiente de correlación de  $r = 0.99$  como se puede observar en la figura 6.

La emergencia en campo es considerada una prueba de vigor que elimina muchos factores que pueden influir en la expresión del potencial de germinación de las semillas. La prueba de germinación en el laboratorio por motivo de ser realizada en condiciones favorables, la planta se puede formar de una semilla sin la cantidad de reserva suficiente, por lo que en condiciones de campo no sobreviviría a las adversidades, lo que ratifica que para la evaluación de vigor de las semillas, el tiempo de imbibición de 45 minutos resulta promisorio (Custodio, 2005).



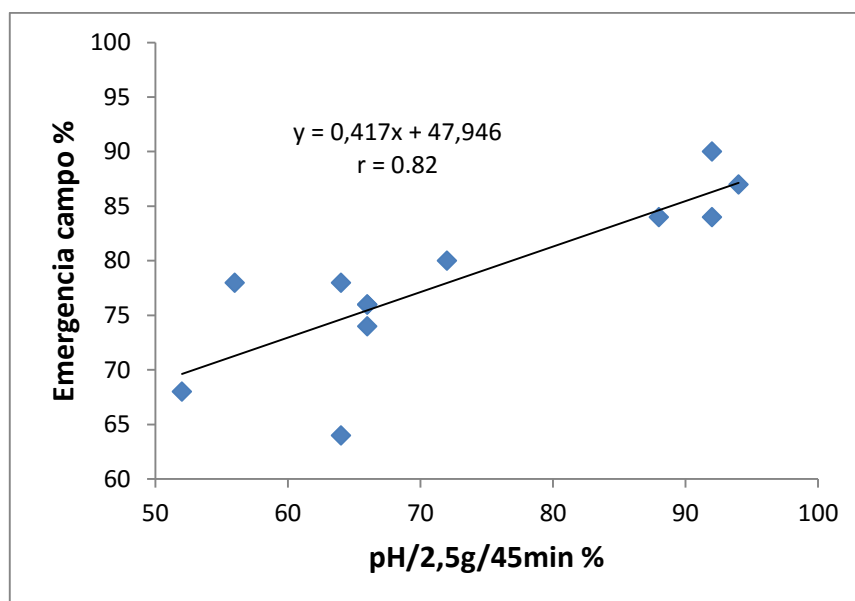
**Figura 6.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soya embebidas durante 45 minutos con la emergencia en campo.

Igualmente los datos obtenidos de semillas vigorosas en la prueba de frio tienen una buena relación con las semillas de exudado rosa fuerte y rosa débil que se registraron en la prueba de pH del exudado individual con un tiempo de imbibición de 45 minutos, tal como se observa en la Figura 7. La relación fue más estrecha presentando un coeficiente de correlación  $r = 0,86$ , lo que indica que la relación lineal fue la que mejor se adecuó a los datos, implicando el 86% de la variación.



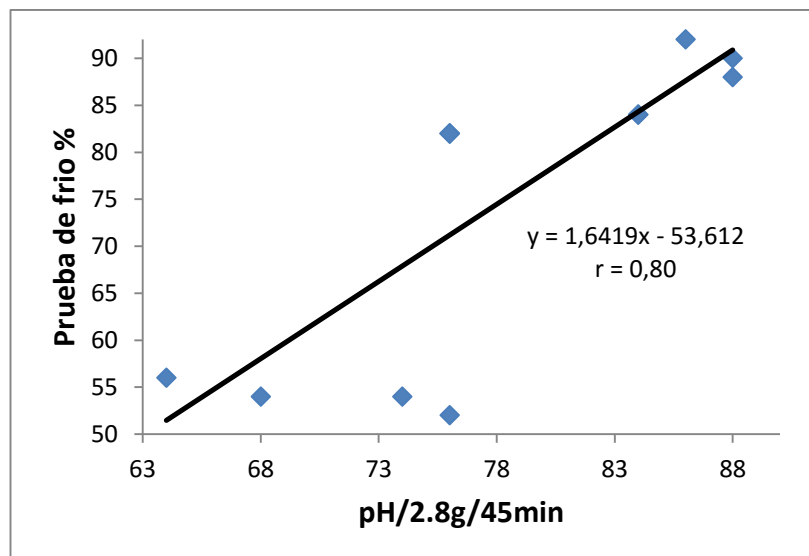
**Figura 7.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas embebidas durante 45 minutos con la prueba de frio.

Conociendo que el mejor tiempo de imbibición para determinar el vigor de la semilla de soya es de 45 minutos, se correlacionó las diferentes concentraciones carbonato de sodio con la prueba de emergencia de las semillas en campo. Se observó que la mejor relación se obtuvo entre la prueba del pH del exudado con la concentración de 2.5 gramos de carbonato de sodio que presentó un coeficiente de correlación de  $r = 0.82$  (Figura 8).



**Figura 8.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 45 minutos y empleando la solución tituladora de 2.5 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la emergencia en campo.

También se procedió a realizar la correlación entre la prueba del pH individual de las semillas de soya con las diferentes concentraciones de la solución tituladora de carbonato de sodio con la prueba de frío y se determinó que la mejor relación se obtuvo con la concentración 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5% presentando un coeficiente de correlación de  $r = 0.80$ . Esta información coincide con los resultados obtenidos de la investigación realizada por (Montenegro, 1991) que llegó a la conclusión que para estimar el vigor de las semillas de soya en la prueba del pH del exudado individual, el periodo de imbibición más adecuado de la semilla de soya es de 45 minutos y 2.8 gramos de carbonato de sodio (Figura 9).



**Figura 9.** Relación entre pH del exudado individual de las semillas de soyas (embebidas durante 45 minutos y empleando la solución tituladora de 2.8 gramos de carbonato de sodio más fenolftaleína al 0.5%) y la prueba de frío.

#### 4.1.6 Consideraciones Finales

La prueba del pH del exudado individual de las semillas puede ser considerada una técnica importante para estimar la viabilidad de las semillas de soya ya que el resultado es obtenido en aproximadamente 30 minutos, siendo su principal característica la rapidez para obtener información sobre las condiciones fisiológicas del lote, que ayudaría al productor de semilla en la toma de decisión para su comercialización.

Para la adopción de la prueba del pH del exudado en programas de control interno de calidad por parte de empresas productoras de semillas se debe tener en consideración la habilidad del analista pues realmente, la prueba es rápida, fácil de realizar y barata. Sin embargo, necesita de algunos cuidados especiales tales como: calidad y volumen del agua utilizada, tiempo y temperatura de imbibición de la semilla, concentración de la base (carbonato de sodio), limpieza de los materiales.

El tamaño de la gota de la solución indicadora (carbonato de sodio + fenolftaleína) es de gran importancia pues puede influir negativamente en los resultados originando alteraciones en las coloraciones de los exudados de las semillas, sobrestimando el porcentaje de viabilidad en relación de las demás pruebas. Durante la ejecución de la prueba puede surgir duda en lo referente a interpretación de la viabilidad de las semillas colocadas en celda donde se obtienen coloración rosa débil pues esta tonalidad podría no estar bien caracterizada y presentar variaciones. En este caso, es recomendable identificar cada una de las tonalidades observadas y las semillas colocadas para germinar de acuerdo con los resultados obtenidos, este procedimiento puede ser necesario hasta que el analista se familiarice con el significado de cada tonalidad observada.

La ejecución de la prueba como ya fue descrito en la metodología exige algunos cuidados básicos para evitar posibles interferencias. Después de colocar la solución indicadora en el agua de imbibición de la semilla se debe agitar teniendo cuidado para no mezclar los líquidos de las diferentes celdas de la bandeja, evitando de esta manera que pueda ocurrir mezcla de residuos de una celda poco reactiva (semilla viva) con otras muy reactivas (semilla muerta) e interferir en la evaluación.

La prueba del pH del exudado-fenolftaleína nos permite determinar las características de viabilidad y vigor de un lote de semillas, con algunas ventajas: a) rapidez; b) simplicidad; c) bajo costo; d) seguridad.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1 Conclusiones

En base a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- La calidad fisiológica de la semilla de soya puede ser estimada por la prueba del pH exudado individual.
- El pH del exudado individual de las semillas embebidas por 30 minutos sobreestimo el valor porcentual cuando comparadas con la prueba de germinación estándar.
- El vigor de la semilla de soya puede ser estimado cuando las semillas son embebidas en agua destilada por 45 minutos, con la concentración de 2.8g de carbonato de sodio, el cual presento alta correlación con la emergencia a campo y la prueba de frio.
- La prueba del pH del exudado, depende del tiempo de imbibición y de la concentración de la solución.



## 5.2 Recomendaciones

- Realizar estudios más específicos, principalmente en condiciones controladas de temperatura
- Tener mucho cuidado en la preparación de las soluciones agitando lo menos posible los reactivos para evitar precipitaciones.
- Caracterizar con precisión cada una de las tonalidades que se forman luego de aplicar la solución tituladora al sustrato de imbibición.

## **CAPÍTULO VI**

## **BIBLIOGRAFÍA**

## 6.1 Literatura Citada

- Aguirre, R., & Peske, S. (1992). Manual para el beneficio de semillas. Cali - Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. 247 p.
- Amaral, A. (1991). Testes rapidos para estimar a germinacao de sementes. Lavoura Arroceira, Porto Alegre, BR. V. 44, No. 397. pp. 10 – 14.
- Amaral, A., & Peske, S. (1984). pH do exsudato para estimar en 30 minutos a viabilidade de sementes de soja. Revista Brasileira de Sementes. Brasilia, BR. V. 6 No. 3. pp. 85 – 92.
- Amaral, A., & Peske, S. (1984). Prediction of the germination of soybean seeds by measurement of the pH of seed exudates. Revista Brasileira de Sementes. Brasilia, BR. V. 6 No. 3. pp. 85 – 92.
- Amaral, A., & Peske, S. (1985). pH un parámetro para estimar con rapidez, a germinacao de soja. Lavoura Arrozeira. Porto Alegre, BR. 38 (365). pp. 30 – 31.
- Barros, A., & Marcos Filho, J. (1990). Testes para avaliacao rápida da viabilidade de sementes de soja. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Brasilia, BR. V. 10 No. 25. pp. 1447 – 1459.
- Bastidas, R. (1994). Aspectos botánicos de la planta de soya. IN: El cultivo de la Soya ICA – CORPOICA. CO. pp. 25 – 34. (Manual de Asistencia Técnica No. 60).
- Chavéz. (1995). Teste do pH Exudato para Sementes de Milho (Zea mays L.). Pelotas. Revista Brasileira de sementes, Vol. 24 (1). 134 - 140 p.
- Corso, C., Santos Filho, J., Fontana, G., Porto, M., Orrego, F., Morosina, S., y otros. (1976). Morfología, Nutrición y Manejo da Cultura da Soja. Trigo e Soja. Ano 1 No. 9. pp. 3 – 8.

- Cortina, J. (2013). Avaliação do Potencial Fisiológico de Sementes de Soja Pelos Testes de pH do Exudato, Alagamento e Índice de Resistência ao Enrugamento. Chapado Do sul. Universidad Federal de Mato. Grosso do sul. 52 p.
- Custodio, C. (2005). Testes rápidos para avaliação do vigor de sementes: Uma revisão. *Colloquium Agrariae*. V. 1 No. 1. pp. 29 – 41.
- Diaz, D. (1994). Testes de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max(L) Merrill*). Piracicaba, ESALQ. Universidade de São Paulo, BR. 136p. (Tese Doutorado).
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants*. 2 ed. NY. John Wiley & Sons. 54 p.
- Fernández, D., Petrini, J., & Amaral, A. (1984). Novo testes de viabilidade de sementes de soja. Teste de timerosal. EMBRAPA/UEPAE. Pelotas, BR. 3p. (Pesquisa em Andamento, 10).
- INEC. (2012). *Sistema Agroalimentario de la Soya*. Obtenido de <http://www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Soya.pdf>
- ISTA. (1985). *International Rules for Seed Testing*. Seeds Science and Technology. Vol. 13 No. 2. 520p.
- Lott, J., Cavdek, V., & Carso, J. (1991). Leakage of K, Mg, Cl, Ca and Mn from imbibing seeds grains and isolated seed parts. *Seed Sci. Res.* Wallingford, 1. pp. 229 – 233.
- Marcos Filho, J., Cicero, S., & Silva, W. (1987). Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba, FEALQ. 230 p.
- Matthews, S., & Bizadnockc, W. (1968). Relation-ship between seed exudation and field emergence in peas and french beans. *Horticulture Research*, 8. pp. 89 – 93.
- Menezes, N. (2001). Testes rápidos. In *Seed New*. La Revista Internacional de Semillas. Año V. No. 3. pp. 30 – 32.

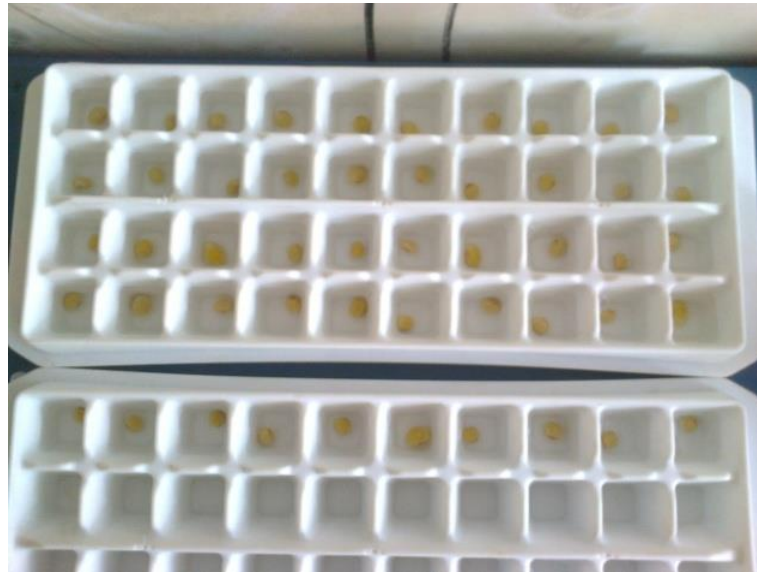
- Montenegro, T. (1991). Metodologia na conducao do teste de pH do exudato para sementes de soja e milho. Universidad federal de Pelotas, UFPel. 82 p. (Tese Mestrado).
- Muller, L. (1981). Morfologia, anatomia e desenvolvimiento. In A Soja no Brasil. pp. 73 – 108.
- Nedel, J. (2005). Morfología y fisiología de la planta de soja. IN Soja Producción y Tecnología/Organizadores: Silmar Peske, Luis Navia Trigo, Maria Fernanda Otero. 2da Ed. Pelotas: Editorial Gráfica. Universidadede Federal de Pelotas. 547 p.
- Oliveira, J. (1990). Correlacao entre a evolucao de hexanal e de aldeidos totais, a lixiviacao de ions e o potencial de germinacao de sementes de soja. Vicoso, Universidad federal de Vicoso. 79 p. (Tese Mestrado).
- Peske, S., & Amaral, A. (1994). pH of Seed exudates as a rapid physiological quality test. Seed Science and Tecnology. V. 22 (3). Pp. 483 – 495.
- Peske, S., & Pereira, L. (1983). Tegumento da semente de soja. In Tecnologia de Sementes. Vol. 6 No. 1 y 2. pp. 23 – 34.
- Piana, Z., Tillmann, M., & Silva, W. (1992). Avaliacao da qualidade fisiologica de sementes atraves de testes rapidos. Informativo ABRATES. Vol. 3, No. 1. pp. 37 – 47.
- Santos, J., Alvarenga, R., Timoteo, T., Conforto, E., Marcos Filho, J., & Vieira, R. (2011). Avaliacao do Potencial Fisiológico de Lotes de Sementes de Soja. *Revista Brasileira de Sementes*. Vol 33 (4). p 743-751.
- Sediyama, T., Reis, M., & Destro, D. (1981). Producao de sementes de soja em Minas Gerais. Consideracoes Tecnicas. UFLA, Vicoso, MG. BR. 61.
- Sousa, B. (2014). Potencial Fisiológico de Sementes de Guazuma ulmifolia Lam. A través do teste do pH do exudato. *Enciclopedia Biosfera. Centro Científico Conhecer - Goiânia*. Vol 10 (18), p 2.

- Tyagi, C. (1993). Evaluating viability and Vigour in soybean by an exudates pH test. *Seed Science and Tecnology*. V. 21 (2) No. 2. pp. 475 – 478.
- Vernetti, F. de J., & Gastal, M. D. (1979). Decricao botánica da Soja. EMBRAPA, UEPAE, PELOTAS BR. 15 p. (Circular Técnica No. 7).
- Viera, R., & Krzyzanowski, F. (1999). Teste de conductividade electrica. In *Vigor de Sementes: Conceitos e Testes*. ABRATES. pp. 4 – 26.
- Woodstock, L. (1973). Physiological and biochemical test for seed vigor. *Seed Science and Tecnology*, Zurich, Vol. 1, No. 1. pp. 127 – 157.

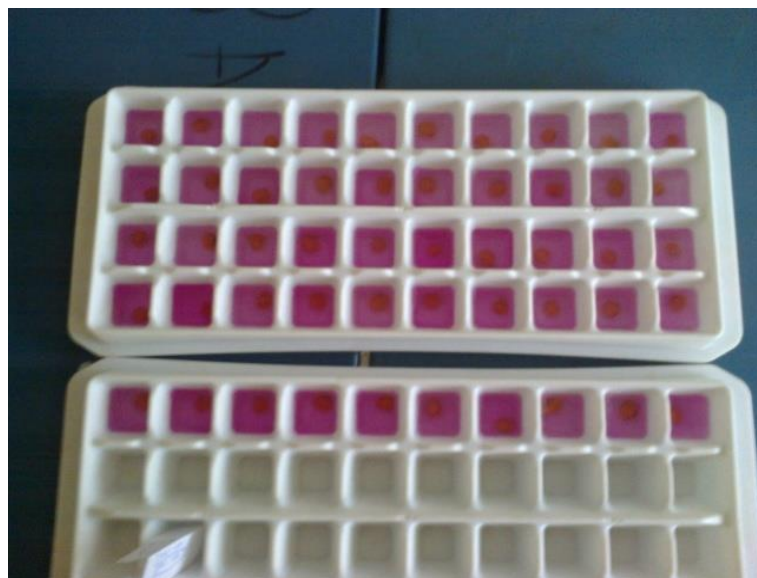
## **CAPÍTULO VII**

### **ANEXOS**

**Anexo 7.1** Semillas de soya individualmente sumergidas en agua destilada y hervida.

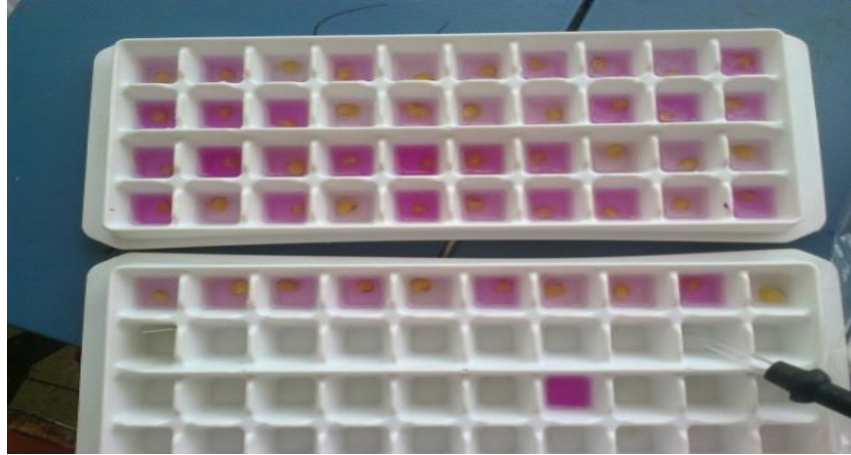


**Anexo 7.2** Color de las celdas luego de aplicar la gota de la solución.





**Anexo 7.3** Tonalidad final del exudado luego de mezclar la gota de solución (carbonato de sodio + fenolftaleína) aplicada a las semillas de soya en sumersión.



**Anexo 7.4** Procedimiento para realizar la prueba de frío y germinación.



**Anexo 7.5** Envoltura final del papel y la muestra lista para ingresar al germinador.



**Anexo 7.6** Muestra abierta a los 5 días de pasar en el germinador.



**Anexo 7.7** Plántulas anormales y normales.



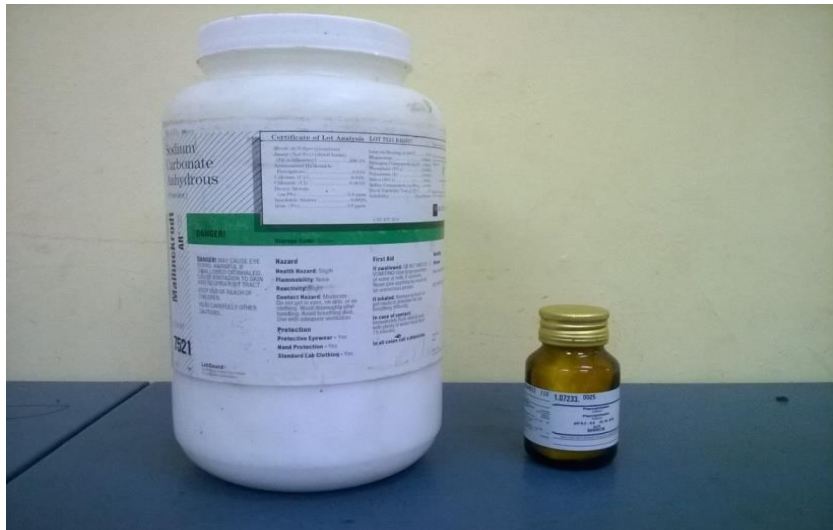
**Anexo 7.8** Siembra para ejecutar la prueba de emergencia en campo.



**Anexo 7.9** Prueba de emergencia en campo a los 5 días de establecida.



**Anexo 7.10** Carbonato de sodio y fenolftaleína.



**Anexo 7.11** Soluciones con diferente concentración de carbonato de sodio y la solución de fenolftaleína.



**Anexo 7.12** Soluciones mezcladas para ser utilizadas en la prueba del pH del exudado.



**Anexo 7.13** Goteros y pinza utilizados para la prueba del pH del exudado.



**Anexo 7.14** Plántulas procedentes de los exudados rosa fuerte, rosa débil y el exudado incoloro.



**Anexo 7.15** Análisis de varianza de la prueba del pH del exudado

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F. Calc.</b>	<b>p-valor</b>
Tiempos	1	1252,24	1252,00	415,00	< 0,0001
Solución	2	545,40	273,00	90,00	< 0,0001
Tiempos * Solución	2	64,69	32,00	11,00	0,0013
Error	15	45,26	3,00		
Total	23	1914,81			
C.V. (%)	2				

**Anexo 7.16** Análisis de varianza de la prueba de conductividad eléctrica

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F. Calc.</b>	<b>p-valor</b>
Lotes	2	9922,45	4961	61,07	< 0.0001
Error	9	151,75	3,00		
Total	11	620,25			
C.V. (%)	8,6				

**Anexo 7.17** Análisis de varianza de la prueba de frío.

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F. Calc.</b>	<b>p-valor</b>
Lotes	2	2718,00	1359,00	265,89	< 0.0001
Error	9	46,00	5,11		
Total	11	2764,00			
C.V. (%)	3,0				

**Anexo 7.18** Análisis de varianza de la prueba de emergencia campo

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F. Calc.</b>	<b>p-valor</b>
Lotes	2	468,5	234,25	13,89	0,0018
Error	9	151,75	16,89		
Total	11	620,25			
C.V. (%)	5,3				

**Anexo 7. 19** Análisis de varianza de la prueba de germinación estándar

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>F. Calc.</b>	<b>p-valor</b>
Lotes	2	1308,67	654,33	62,65	< 0.0001
Error	9	94,00	10,44		
Total	11	1402,67			
C.V. (%)	3,8				