

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Efecto del ozono (O₃) sobre semillas almacenadas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

Effect of ozone (O₃) on stored seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Isilda Braz Impene Combo, Roberto Valdés Herrera, Edilberto Pozo Velázquez, Marlen Cárdenas Morales

Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuani km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54830

E-mail: robertovh@uclv.edu.cu

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Patología de Insectos del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), ubicado en la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas con el objetivo de evaluar el efecto del tratamiento con ozono (O₃) sobre el vigor de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. Para determinar este efecto, a dos variedades de frijol común (BAT-304 y Delicias-364) se le realizaron la prueba de germinación, la prueba de conductividad eléctrica y la prueba de emergencia en bandejas. El ozono no afectó el vigor de las semillas de las variedades BAT-304 y Delicias-364. El tiempo de exposición de semillas de *P. vulgaris* a 150 ppm de O₃ no afectó los parámetros de velocidad de germinación y el porcentaje de germinación.

Palabras clave: tratamiento, BAT-304, Delicias-364, vigor

ABSTRACT

The present work was carried out at the Laboratory of Insect Pathology of the Center for Agricultural Research (CIAP), located at the Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, with the aim to evaluate the effect of the ozone (O₃) treatment on the seed vigor of *P. vulgaris*. To determine the effect of the ozone on the seed vigor, a germination test, electrical conductivity test and emergency tray test were performed on two common bean varieties (BAT-304 and Delicias-364). Ozone did not affect the vigor of the seeds of the varieties BAT-304 and Delicias-364. The exposure time of *P. vulgaris* seeds to 150 ppm of O₃ did not affect the parameters of germination speed and the percentage of germination of the seeds.

Keywords: treatment, BAT-304, Delicias-364, vigor

INTRODUCCIÓN

En el período de almacenamiento, las altas temperaturas y humedad de los granos, junto con el agrupamiento de estos, proporcionan condiciones que aceleran el desarrollo de los gorgojos. Estos insectos pueden alcanzar poblaciones de gran cuantía en silos o almacenes que no son revisados periódicamente y son capaces de provocar grandes pérdidas económicas que oscilan entre un 9 a un 20 % del producto cosechado (Mira, 2011).

Los gorgojos se controlan de manera convencional con la utilización de fosfamina (fosfuro de hidrógeno PH₃), insecticida muy eficaz en estas condiciones (De Liñan y De Liñan, 2015). No obstante, el ozono ha mostrado ser una nueva alternativa de control (Rozado et al., 2008); aunque se ha comprobado que no afecta la calidad culinaria de los granos, pero son insuficientes las investigaciones realizadas sobre el daño que pueden tener las semillas tratadas con este gas, en el período de almacenamiento.

Teniendo en cuenta estos antecedentes y la importancia que reviste para la población cubana el consumo de este grano, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con ozono sobre el vigor de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Patología de Insectos del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.

Las semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) fueron previamente seleccionadas y almacenadas en frascos de cristal transparente de 2 L de capacidad, debidamente sellados para garantizar que estuviesen libres de plagas. A los 30 días fueron desechados los frascos contaminados con insectos.

En placas de petri de 9 cm de diámetro se colocaron 35 g de semillas de *P. vulgaris* de las variedades BAT-304 (testa negra) y Delicias-364 (testa roja) separadas por variedad, para un total de 45 placas por variedad y 90 placas totales. Las placas con semillas fueron colocadas en una campana de cristal de 18 L de capacidad a la cual se le conectó un generador de ozono Marca Etron que mantuvo un flujo de aire constante de 2 L min⁻¹

y 150 ppm de ozono en aire. El experimento se mantuvo hasta completar las 72 h a temperatura ambiente. Para las pesadas de las semillas se utilizó una balanza analítica Marca Over Labor (con precisión de 0,1 mg).

Por cada variedad se retiraron cinco placas de Petri con semillas pasadas 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64 y 72 horas. Posteriormente, pasadas 72 horas de retiradas las placas se realizaron las pruebas para determinar el vigor de las semillas tratadas. El experimento tuvo de un tratamiento control (semillas sin tratar con ozono).

a) Prueba de Germinación

Se tomaron 100 semillas por cada tiempo de exposición al ozono, en papel de filtro previamente humedecido con 2 mL de agua destilada, colocados dentro de placas de Petri de 11 cm de diámetro por 1,5 cm de altura. Este procedimiento se repitió en dos oportunidades para cada variedad de frijol. Posteriormente se realizaron evaluaciones cada 24 horas durante siete días. Se consideraron como germinadas sólo las plántulas normales, libres de manchas necróticas o con síntomas de necrosis muy incipientes. Los datos para el primer conteo de esta prueba, se analizaron por separado, ya que este valor representa la velocidad de germinación de la semilla que es usado como índice de vigor (Copeland y McDonald, 2001; Contreras y Barros, 2005; Valdés et al., 2012).

b) Prueba de conductividad eléctrica (CE)

El método empleado correspondió a una adaptación del método descrito por Perry (1984) citado por Valdés et al. (2012) que consiste en sumergir 200 semillas en 45 mL de agua destilada por 24 h para medir la conductividad del agua. Con este propósito, cinco réplicas de 10 semillas por cada variedad, se sumergieron en 50 mL de agua destilada por 24 h a 20 °C. A las 24 horas fue medida la conductividad eléctrica de la fase líquida con un conductímetro marca WTW Cond 315i. Para cada ensayo se preparó un tratamiento control que contuvo agua destilada.

c) Pruebas de emergencia en bandejas

La siembra en bandejas fue mediante una modificación realizada al método descrito por Contreras y Barros (2005) quienes realizaron este método para semillas de lechuga. Con este propósito se realizaron los experimentos en el cual se emplearon bandejas de polietileno, de 68 x 47 x 6 cm con orificios de 3 x 3 x 5 cm para

un total de 247 orificios. Se usó como sustrato una mezcla de suelo con humus de lombriz (3:1). Se sembraron 30 semillas por tratamiento, una semilla por cada orificio. Las bandejas, fueron dispuestas bajo luz natural difusa, añadiendo agua cada dos días para mantener la humedad. A los 14 días después de la siembra se contabilizaron las plantas germinadas por bandeja. A cada planta se le evaluó la longitud del tallo y de la raíz.

Todos los resultados obtenidos fueron analizados y procesados por programas soportados sobre *Microsoft Windows XP Profesional ver. 2002 Service Pack 3*. Los datos fueron ordenados y tabulados en *Microsoft Office Excel 2003*. Para el procesamiento estadístico de los datos se emplearon los paquetes de programas *STATGRAPHICS Centurion XV versión 15.2.14 Edición Multilingüe* y *Statistix versión 9* con sus programas ANOVA. Se realizaron las pruebas de

Kruskal-Wallis, Prueba Z para Kruskal-Wallis y Duncan, con un nivel de confianza de un 95 %, posterior a la comprobación de la homogeneidad de varianza y normalidad de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de Germinación

El efecto del ozono sobre la velocidad de germinación y el porcentaje de germinación fue diferente para las variedades. En la BAT-304, a las 72 horas de iniciado el experimento el porcentaje en todos los tratamientos fue del 100 % (Figura 1), lo cual muestra que el tiempo de exposición al ozono no afectó la germinación de las semillas.

En la variedad *Delicias-264* los tratamientos no obtuvieron el 100 % de germinación; no obstante, se pudo apreciar que la velocidad y el porcentaje

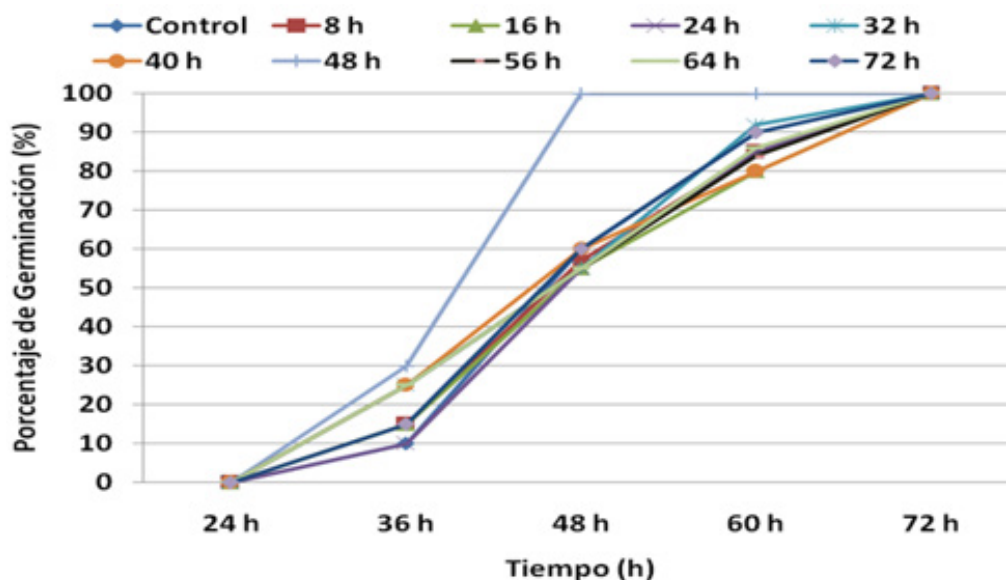


Figura 1. Efecto del ozono en la germinación de la variedad BAT-304

de germinación fueron similares en los diferentes tratamientos. Las semillas expuestas durante 72 h al ozono tuvieron un 96,66 % de germinación, lo cual evidenció que el tiempo de exposición al ozono no afectó los parámetros de velocidad y porcentaje de germinación (Figura 2).

Prueba de conductividad eléctrica (CE)

Al analizar los resultados obtenidos en la prueba de conductividad eléctrica a semillas de las dos variedades de frijoles en estudio se observó que el tratamiento con mayor conductividad en

la variedad BAT-304 fue el control seguido por el tratamiento de 8 horas (Tabla 1). La menor medición de conductividad correspondió al tratamiento sometido por 16 horas al ozono, con una conductividad de $162,93 \mu\text{Siemens cm}^{-1}$ como promedio. En la variedad *Delicias-364* los tratamientos con mayor conductividad eléctrica fueron 72 y 48 horas aunque no existieron diferencias significativas.

Craviotto y Arango (2012) citados por Valdés *et al.* (2012) refieren que el fundamento

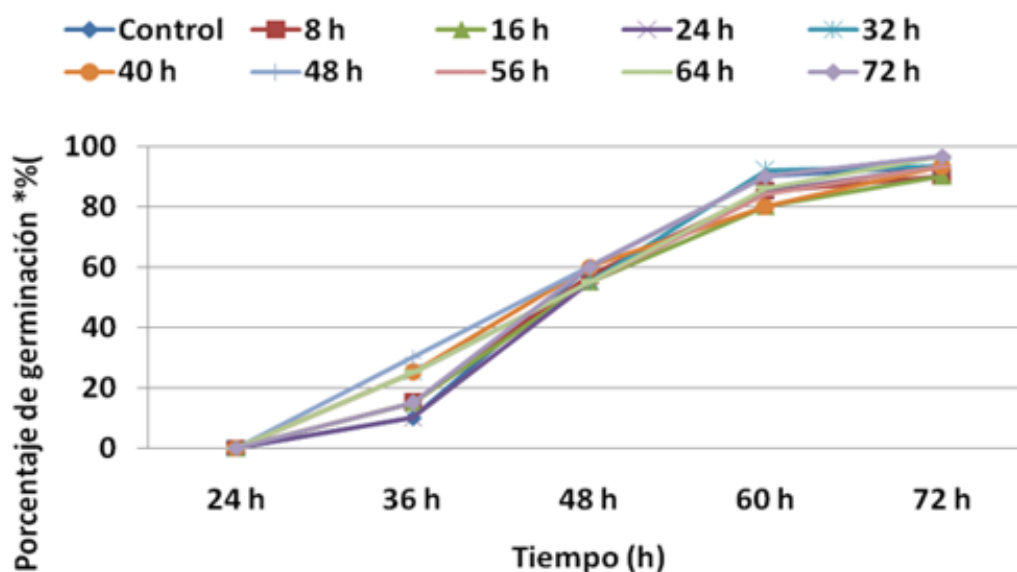


Figura 2. Efecto del ozono en la germinación de la variedad Delicias-364

Tabla 1. Conductividad eléctrica en el medio de imbibición por parte de las semillas de frijol común

Tratamientos	BAT-304			Delicias-364		
	Promedio de Conductividad Eléctrica (μ Siemens/cm)	Límite Inferior	Límite Superior	Promedio de Conductividad Eléctrica (μ Siemens/cm)	Límite Inferior	Límite Superior
Control	180,37	166,83	193,91	199,10	191,03	207,17
8 h	178,39	164,85	191,94	192,52	184,45	200,59
16 h	162,93	149,39	176,48	188,14	180,07	196,21
24 h	170,70	157,16	184,24	194,24	186,17	202,31
32 h	171,13	157,59	184,67	192,69	184,63	200,76
40 h	168,90	155,36	182,44	188,19	180,13	196,26
48 h	173,40	159,86	186,94	199,37	191,30	207,43
56 h	165,93	152,39	179,47	197,87	189,81	205,94
64 h	175,46	161,92	189,00	193,14	185,07	201,21
72 h	166,63	152,61	180,65	202,59	194,24	210,94
EE (\bar{x}) \pm	5,9552			3,5472		

de la prueba de conductividad eléctrica es la mayor o menor liberación de electrólitos (iones, azúcares, aminoácidos, etc.) al medio de imbibición por parte de las semillas de acuerdo a la condición fisiológica de las mismas. Las semillas deterioradas liberan mayor cantidad al medio debido a la pérdida de la integridad de las membranas celulares y una mayor permeabilidad de las mismas.

Las membranas celulares son esenciales para la respiración y la síntesis enzimática. Estas pierden

su integridad a medida que la semilla se seca en la madurez, sin embargo, durante la imbibición, se restaura la integridad de la misma. Las semillas con buen vigor restablecen las membranas a mayor velocidad y con menor exudado que las semillas menos vigorosas.

Prueba de emergencia en bandejas

La prueba de emergencia de bandejas muestra que las longitudes de las raíces en las semillas tratadas durante 8 y 16 h presentan diferencias

significativas respecto a las de semillas tratadas por 64 y 72 h, pero independientemente a ese resultado, estos tratamientos no mostraron diferencias con el control (Tabla 2). En los tallos, las mayores longitudes correspondieron a las plantas de los tratamientos 56, 48, 32, 72, 24 y 64 horas respectivamente. Los tratamientos con

ozono no presentan diferencias significativas respecto al control.

Las plantas de la variedad Delicias-364, la mayor longitud de raíz correspondió a las del tratamiento 40 h (Tabla 3). En esta variedad existieron diferencias significativas entre los tratamientos 8 y 16 h referente a los demás

Tabla 2. Longitud promedio del tallo y de la raíz de las plantas de frijol común variedad BAT-304 en la prueba de emergencia en bandejas

Tratamientos	Longitud promedio de la raíz (cm)	*Media de Rangos para la longitud promedio de la raíz		Longitud promedio del tallo (cm)	*Media de Rangos para la longitud promedio del tallo	
Control	6,29	127,81	ab	18,31	128,98	ab
8 h	6,33	132,23	ab	15,33	64,27	b
16 h	5,49	91,79	b	16,06	64,27	b
24 h	5,23	95,85	b	18,91	142,04	a
32 h	5,59	105,19	ab	19,49	145,12	a
40 h	7,01	152,44	ab	17,68	119,31	ab
48 h	6,74	134,29	ab	19,97	152,60	a
56 h	6,30	130,83	ab	20,68	183,69	a
64 h	7,64	163,98	a	18,90	151,19	a
72 h	7,57	170,60	a	19,47	148,10	a
Valor crítico de comparación		68,009			68,009	

*Media de Rangos según Kruskal-Wallis. Letras diferentes en la columna denotan diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple Z de Kruskal-Wallis para un alfa de 0,05

Tabla 3. Longitud promedio del tallo y de la raíz de las plantas de frijol común variedad Delicias-364 en la prueba de emergencia en bandejas

Tratamientos	Longitud promedio de la raíz (cm)	Media de Rangos para la longitud promedio de la raíz		Longitud promedio del tallo (cm)	Media de Rangos para la longitud promedio del tallo	
Control	9,76	158,48	ab	10,39	114,13	de
8 h	4,31	45,788	d	8,77	65,865	ef
16 h	4,63	39,231	d	7,57	36,288	f
24 h	5,50	66,596	cd	9,30	80,173	dfe
32 h	14,21	206,77	a	11,31	141,56	bcd
40 h	14,91	205,31	a	11,07	133,79	cde
48 h	8,91	131,81	bc	10,70	122,94	de
56 h	11,43	167,75	ab	13,52	202,58	ab
64 h	9,74	152,87	ab	12,72	216,62	a
72 h	9,07	130,40	bc	12,87	191,06	abc
Valor crítico de comparación		68,009			68,009	

*Media de Rangos según Kruskal-Wallis. Letras diferentes en la columna denotan diferencias significativas según la Prueba de Comparación Múltiple Z de Kruskal-Wallis para un alfa de 0,05

tratamientos, exceptuando con el tratamiento de 24 h. Al evaluar la longitud de los tallos, el tratamiento 16 h presentó diferencia respecto a los demás tratamientos, descontado el de 8 h.

García y Lasa (1991) refieren que los ensayos bioquímicos y fisiológicos son económicos, relativamente rápidos y no requieren la formación adicional de un personal. No obstante, las pruebas realizadas no son suficientes para hacer una estimación completa de la calidad de las semillas. El diagnóstico completo de calidad puede alcanzarse a partir de la combinación de las pruebas para definir la calidad sobre la base de aquellos atributos de interés que poseen. Los análisis de sanidad de semillas ayudan a completar la información sobre la calidad y conforman un verdadero diagnóstico completo de la calidad de las semillas (Machado *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

El tiempo de exposición de semillas de *P. vulgaris* al ozono no afectó el vigor de las semillas de las variedades de frijol evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA

- CONTRERAS, S.Y.M. BARROS. 2005. Pruebas de Vigor en Semillas de Lechuga y su Correlación con Emergencia. Departamento de Ciencias Vegetales. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 306-22, Santiago, Chile. (32) 1.
- COPELAND, L. O. and M. B. MCDONLAD. 2001. Principles of seed science and technology. 4th ed.. Kluwer Academic Publishers, EUA. 467 p.
- DE LIÑÁN, C. y C. DE LIÑÁN. 2015. Vademécum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales 2015. Ediciones Agrotécnicas SI, 836 p. ISBN: 9788416389216.
- GARCÍA, A. y J. M. LASA. 1991. Ensayos de vigor de nacencia: Revisión bibliográfica. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Zaragoza. En sitio web: http://digital.csic.es/bitstream/10261/11629/1/ENSAYOS%20DE%20VIGOR%20DE%20NASCENCIA-REVISION%20BIBLIOGRAFICA.PDF?origin=publication_detail Consultado el 20 de enero de 2017.
- MACHADO, M.I., R.V. HERRERA, M.C. MORALES. 2015. Efecto del ozono (O₃) sobre el vigor de las semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) variedad UDG-11. Centro Agrícola, 42 (1): 11-16.
- MIRA, Y. 2011. Efecto del ozono (O₃) sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) y granos de frijol común. Tesis de Diploma. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. 46 p.
- ROZADO, A., LÊDAFARONI, R. GUEDES, J. Y L.W. URRUCHI. 2008. Aplicação do ozônio em relação a *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. Diario de Engenharia Agrícola e Ambiental Ingeniería Agrícola y Ambiental, 12 (3): 282–285.
- VALDÉS, R., E. POZO-VELÁZQUEZ, M. CÁRDENAS-MORALES, L. JIMENEZ-FERRER, C. PÉREZ, R. RODRÍGUEZ-ROJAS. 2012. Efecto del ozono sobre el vigor de semillas de Garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Centro Agrícola, 39(4): 21-26.

Recibido el 25 de enero de 2017 y aceptado el 20 de septiembre de 2017