

# Análisis estadístico de la viabilidad de semillas de girasol

## Andrea García Caballero

Grado en Farmacia. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. andgar06@estumail.ucm.es

# Margarita Torres Muñoz. Gloria Frutos Cabanillas.

Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. mtm@farm.ucm.es; gloriafr@farm.ucm.es

Resumen: La viabilidad de semillas de girasol (*Helianthus annuus L.*) de distintas variedades (Petunia, Anteol y Toledo-2), sometidas a envejecimiento artificial durante 48 horas a 30°C y 75,1 % HR (tratamiento 2) y 35°C y 92,5 % HR (tratamiento 3), y utilizando como control semillas no tratadas (tratamiento 1), se estudió mediante un ensayo a 25°C, en oscuridad y en papel enrollado (papel Whatman 3MM entre dos hojas de papel Whatman núm. 1), siguiendo las recomendaciones de la ISTA. Los datos obtenidos se analizaron mediante técnicas estadísticas descriptivas, inferenciales y de regresión logística. En las tres variedades de semillas de girasol estudiadas (Petunia, Anteol y Toledo-2) la capacidad germinativa no presenta diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, existe una mayor asociación de la viabilidad con las variedades Anteol y Toledo-2 y de la mortalidad con la variedad Petunia. Los tratamientos de envejecimiento artificial disminuyen de forma significativa la viabilidad de las variedades Petunia y Anteol. En este estudio no ha sido posible determinar el modelo de regresión logística debido a la variabilidad del material vivo, que exige un mayor tamaño de muestra.

Palabras clave: germinación. Girasol. Correspondencias. ANOVA. Regresión logística.

### INTRODUCCIÓN

Desde el enfoque fisiológico, la germinación es el proceso que comienza con la absorción de agua (imbibición) por una semilla seca y termina cuando el eje embrionario o la radícula, dependiendo del tipo de semilla, atraviesa los tejidos envolventes y la cubierta seminal (emergencia radicular o profusión radicular). De acuerdo con esta definición, se entiende como semilla germinada aquella que presenta una radícula visible. Desde un enfoque tecnológico, este criterio no se emplea por las empresas de semillas, ya que no informa de su potencial durante los estados iniciales del crecimiento de las plántulas, aspecto muy relevante en relación al establecimiento homogéneo después de la siembra e indicativo de la calidad de un lote de semillas <sup>(1)</sup>.

Por ello, se han ido desarrollando diversos ensayos de vigor, complementarios a los de germinación, para la determinación del potencial fisiológico de las semillas, que son utilizados por las empresas del sector como herramientas de rutinas para conocer la calidad de un lote de semillas. Sin embargo, a pesar de la variedad de métodos biológico empleados, se requieren métodos estadísticos que puedan predecir de forma rápida la calidad de las semillas.

En este trabajo se estudia el comportamiento germinativo de semillas de girasol sometidas a distintos tratamientos de envejecimiento artificial mediante análisis estadístico de los datos experimentales, utilizando técnicas descriptivas e inferenciales. Asimismo, se modeliza la probabilidad de germinación de las semillas, mediante análisis de regresión logística <sup>(2)</sup>.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se emplearon semillas de girasol (Helianthus annuus L.) de tres variedades Petunia (GEN1), Anteol (GEN2) y Toledo-2 (GEN3). Con objeto de simular distintas posibilidades de viabilidad, las semillas fueron envejecidas artificialmente mediante almacenamiento en cámara durante 48 horas a 30°C y 75,1 % HR (tratamiento 2) y 35ºC y 92,5 % HR (tratamiento 3), utilizando como control (tratamiento 1) semillas almacenadas a temperatura ambiente. Después de cada tratamiento, las semillas se introdujeron en un desecador (sílica gel) a temperatura ambiente durante tres horas. El material así tratado fue utilizado para la realización de los ensayos de germinación. La viabilidad de las semillas se determinó mediante: 1) ensayos de germinación y 2) ensayos de vigor (evaluación de plántulas). Los ensayos de germinación se realizaron a 25ºC, en oscuridad, empleando la técnica de papel enrollado (papel Whatman 3MM entre dos hojas de papel Whatman núm. 1) siguiendo las recomendaciones de la ISTA (4). La determinación del número de semillas germinadas se realizó diariamente durante 7 días, considerándose como tales las que presentaron una radícula igual o superior a 0,5 cm. Cada combinación experimental se realizó con 100 semillas, en condiciones de doble ciego (investigador y analista).

Los datos obtenidos se analizaron mediante diferentes métodos estadísticos: a) Análisis de correspondencia <sup>(5)</sup>. Esta técnica se utiliza, desde un punto de vista gráfico, para determinar las relaciones de dependencia o independencia de variables categóricas, cuyos datos se recogen en tablas de contingencia. b) El análisis de varianza (ANOVA) se aplica a los porcentajes de germinación después de haberse realizado la transformación  $arcsen(\ \overline{\%})$ . El modelo utilizado viene dado por la ecuación  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_{GEN} + \beta_2 X_{TRAT} + \beta_3 X_{DIA} + \varepsilon$ , que permite contrastar la hipótesis nula de igualdad de medias frente a la hipótesis alternativa de "no todas las medias de los grupos implicados en el contraste son iguales". c) La regresión logística permite modelar la probabilidad de germinación de la semilla, considerada como variable

dicotómica, con solo dos posibles resultados (germina o no germina) e influida por la presencia o ausencia de una serie de factores (genotipo, tratamiento).

#### **RESULTADOS**

En la Figura 1 se muestran los resultados de los ensayos de germinación. El diagrama de rectángulos representa la distribución de frecuencias correspondiente a las semillas normales, anormales y muertas para los tres genotipos.

Con objeto de establecer relaciones entre los tres genotipos utilizados en el ensayo y los resultados fisiológicos de la germinación se realizó un test de independencia  $\chi^2$ . El valor del estadístico  $\chi^2$  que se obtiene es de 4.666, con 4 grados de libertad y un p-valor de 0.3233.

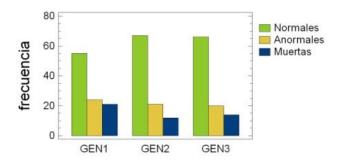


Figura 1. Diagrama de rectángulos agrupado para las semillas de girasol correspondientes a los tres genotipos estudiados.

La Figura 2, resultado gráfico del análisis de correspondencias, muestra los scores correspondientes a las dos primeras componentes principales para los datos de germinación. Cada punto rojo (score) representa cada una de los tipos de semillas (normales, anormales y muertas) después del ensayo, y los verdes (scores) representan los controles de los genotipos estudiados.

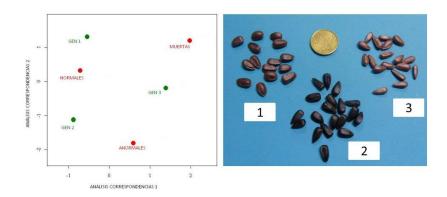


Figura 2. Análisis de correspondencias para las semillas de girasol normales, anormales y muertas, para cara cada una de las variedades analizadas, que se muestran en la fotografía de la derecha.

En la Tabla 1 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) para la variable  $arcsen(\frac{\pi}{6})$ , para los genotipos 1 y 2 sometidos a diferentes tratamientos.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Coeficiente- F	<i>p</i> -valor
Genotipo	0	1	0.0	0.00	1.0000
Tratamiento	0.0891124	2	0.0445562	5.62	0.0068
Día	0.0438625	1	0.0438625	5.53	0.0233
Residuos	0.340978	43	0.00792972		
Total	0.473953	47			

Tabla 1. Análisis de varianza para los porcentajes de germinación (valores transformados).

El resultado del análisis correspondiente a la regresión logística representada por el modelo: probabilidad  $\frac{p}{1-p}=\beta_0+\beta_1 X_{GEN}+\beta_2 X_{TRAT}+\beta_3 X_{DIA}$ , siendo p la probabilidad de que una semilla de girasol germine se muestra en la Tabla 3.

	Valor	Error estándar	Valor-t
Intersección	1.6112	0.1203	13.388
Genotipo	0.7466	0.1202	6.209
Tratamiento 1	0.0883	0.1329	0.664
Tratamiento 2	-0.0294	0.0755	-0.390

Tabla 2. Resultados correspondientes a la regresión logística aplicada a los genotipos 1 y 2, teniendo en cuenta los tratamientos y el periodo de germinación (3 y 5 días).

### DISCUSIÓN

Las semillas del genotipo 2 son las que presentan mayor viabilidad. El porcentaje de semillas muertas (0,21%) más elevado se presenta en el genotipo 1 (Fig. 1). Como el p-valor correspondiente al test de independencia  $\chi^2$ , es superior a 0.05, no se puede rechazar la hipótesis nula de independencia. Así, para este ensayo, no puede rechazarse que el número de semillas normales, anormales y muertas sea independiente del genotipo. Sin embargo, en inferencia estadística, el no rechazo de la hipótesis nula no es concluyente, puesto que el resultado del contraste varía en función del tamaño de la muestra. El análisis de correspondencias (Fig. 2) permite analizar gráficamente las relaciones de dependencia o independencia de las variables categóricas, de modo que las semillas normales presentan una mayor asociación con los genotipos 2 y 3, mientras que las semillas muertas están relacionadas en gran medida con el genotipo 1. Estas asociaciones pueden atribuirse al peso de las semillas, siendo las semillas de bajo ( $\leq$ 80 g/1000 semillas) y medio peso (80-70 g/1000 semillas) las que se relacionan con la mayor normalidad, frente a las semillas de alto peso ( $\geq$ 80 g/1000 semillas) que lo hacen con la mayor mortalidad.

Los resultados del ANOVA (Tabla 1) indican que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (p-valor=0.006) y el periodo de germinación (p-valor=0.023), para la variable arcsen  $\frac{1}{2}$   $\frac{$ 

En un ensayo de germinación solo podemos observar el comportamiento general de un lote de semillas. Este planteamiento conduce a modelos probabilísticos (regresión logística). Los resultados (Tabla 2) indican que las variables explicativas no son significativas (*p*-valores≥0.1), por lo que no es posible determinar la probabilidad de germinación de la semilla de girasol, hecho atribuible al pequeño tamaño de muestra (n=600).

### **CONCLUSIONES**

En las tres variedades de semillas de girasol estudiadas (Petunia (GEN1), Anteol (GEN2) y Toledo-2 (GEN3)), la capacidad germinativa no presenta diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, existe una mayor asociación de la viabilidad con las variedades Anteol y Toledo-2 y de la mortalidad con la variedad Petunia. Los tratamientos de envejecimiento artificial disminuyen de forma significativa la viabilidad de las variedades Petunia y Anteol. En este estudio no ha sido posible determinar el modelo de regresión logística debido a la variabilidad del material vivo, que exige un mayor tamaño de muestra.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- Coopeland LO, McDonald MB. Seed Sciences and Technology. NY: Chapman & Hall; 1995.
- García A. Métodos avanzados de estadística aplicada. Técnicas avanzadas. Madrid: UNED; 2008.
- 3. ISTA. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf: ISTA; 2009.

# **RECURSOS ELECTRÓNICOS**

Asociación de la Sociedad Española de Hipertensión. Liga Española para la lucha contra la Hipertensión Arterial. Fecha de consulta: 10 febrero 2011. Disponible en: http://www.seh-lelha.org/rlogis1.htm

Recibido: 16 marzo 2012. Aceptado: 16 diciembre 2013.