

Autor: Alicia Marta Lucía CEVEDO

Título académico: Magíster Scientiae en Metodología de la Investigación Científica

Entidad que otorgó el título: Facultad de Ciencias Económicas – Universidad Nacional de Entre Ríos.

Fecha de defensa: 27 de junio de 2003

Jurado: María Alejandra Pérez, Angela Norma. Formento, Isabel B. Truffer

TÍTULO: CARACTERIZACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE CULTIVARES DE *PISUM SATIVUM* L. (ARVEJA) MEDIANTE ENSAYOS QUÍMICOS, BIOQUÍMICOS Y DE COMPORTAMIENTO SANITARIO, EN SEMILLAS.

Resumen

El trabajo se desarrolló desde mayo de 2001 en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Entre Ríos) en el marco del PID- UNER 2068: ‘Identificación de cultivares de *Hordeum vulgare* L., *Hordeum distichum* L., *Secale cereale* L., *Lotus corniculatus* L., *Lotus tenuis* Walds et Kit. ex Willd y *Pisum sativum* L. por caracteres morfofisiológicos en semillas y plántulas’. El material biológico con que se trabajó fueron muestras de lotes auténticos de cinco cultivares de arveja (*Pisum sativum* L.), registrados como: *Alfetta*, *Cobri*, *Delta*, *Mikado* y *Televisión*, cuya caracterización y diferenciación se deseaba obtener, mediante *caracteres químicos* como reacción de los cotiledones expuestos a la luz ultravioleta, *caracteres de comportamiento sanitario* según presencia / ausencia del hongo patógeno *Ascochyta pisi* Lib. y *caracteres bioquímicos*, como relevamiento de proteínas totales por electroforesis (SDS— PAGE). En todos los casos los ensayos se hicieron acorde a normas internacionales vigentes, con leves modificaciones (ISTA 1993, 1999).

Los objetivos generales fueron: a) Investigar acerca de la caracterización e identificación en el estadio de semilla de cultivares de *Pisum sativum* L.; b) Seleccionar mediante un análisis metodológico los indicadores que resultaran más eficaces y pertinentes para lograr la discriminación propuesta, y c) Ofrecer un recurso en cuanto a nuevos descriptores de cultivares para el sistema de inscripción y registro de cultivares.

Se propusieron también objetivos específicos: a) Caracterizar cultivares según la reacción de los cotiledones a la luz UV; b) Vincular los resultados del ensayo de presencia/ ausencia de *Ascochyta pisi* Lib. en lotes de semillas con la caracterización varietal, y c) Obtener y codificar patrones electroforéticos de las proteínas de reserva.

La tesis se presenta con una Introducción general, cinco Capítulos, Conclusiones y Bibliografía. Paralelamente se desarrolló una apreciación metodológica del proceso, analizando en cada ensayo el grado de confiabilidad y validez del indicador.

En la Introducción se plantea el *marco epistémico* y el *campo empírico* de esta investigación: los conocimientos y la praxis en que se basa la Tecnología de Semillas, y dentro de ella, el área de Identificación y caracterización varietales. Se destaca la importancia que esta actividad ha alcanzado, tanto para la inscripción de nuevas variedades e híbridos, como para resolver problemas relacionados con la identidad y sanidad de lotes de semillas. Se propone un esquema de investigación utilizando la herramienta metodológica conocida como *Sistema de Matrices*, ejemplificando sus niveles y constituyentes con los elementos que surgen del trabajo propuesto. La

tipificación de *variables* y su correspondencia con los *indicadores* adecuados es también motivo de discusión inicial

En el Capítulo 1 se presenta una reseña del cultivo de arveja que brinda un marco referencial al *sistema* en estudio. Se comentan brevemente taxonomía y centros de origen de la arveja, se expone una breve historia del desarrollo del cultivo en el país y se aportan datos sobre el destino de la producción, así como referencias fitotécnicas y nutricionales. Figuran datos sobre la introducción de nuevos cultivares denominados “*arvejas proteicas*”, sus características, ventajas y requerimientos.

Las características seminales de los cultivares en estudio, según figuran descriptas ante el Registro Nacional de Cultivares y la procedencia de las muestras, se detallan en Capítulo 2.

La reacción de los cotiledones expuestos a la luz UV (Capítulo 3) se realizó según normas ISTA (1993) De acuerdo a los resultados obtenidos fue posible discriminar un grupo de cultivares como mayoritariamente fluorescente y otro grupo como mayormente no fluorescente; estos resultados hacen limitado el uso de esta técnica para diferenciar en forma precisa los cultivares y verificar la identidad de las semillas. El *indicador* utilizado resultó de tipo *global*, pues el carácter analizado se reveló como atributo de cada cultivar, y no permitió establecer vínculos relacionales ni contextuales muy precisos.

El Capítulo 4 presenta el ensayo sobre presencia/ ausencia de *Ascochyta* spp., agente causal de la *antracnosis*, en muestras de semillas de arveja. Se aportan comentarios acerca de la enfermedad, antecedentes, agente causal, síntomas y control. Se expone el desarrollo del ensayo realizado en febrero/ marzo de 2002 en el Laboratorio de Semillas “José Crnko” de la Estación Experimental Agropecuaria INTA La Consulta, Mendoza, de acuerdo a la metodología y reglas ISTA (1968, 1987, 1999) y bajo Normas ISO 25 referentes a los procedimientos operativos vinculados con fitopatología de semillas. El ensayo permitió visualizar la presencia/ ausencia del patógeno en las muestras de los cinco cultivares, así como *correlacionarlo* u orientarlo con respecto a la identidad del cultivar. El indicador fue de tipo *estructural*, al actuar sobre una variable *relacional*. Se encontraron limitaciones al uso de este ensayo, pues en algunos cultivares, principalmente en los susceptibles, dependerá del ambiente de producción de las semillas.

La técnica de electroforesis de proteínas totales, expuesta en Capítulo 5, permitió caracterizar y diferenciar los cultivares en estudio pues se obtuvieron patrones electroforéticos diferentes para cada cultivar. Los patrones electroforéticos obtenidos se evaluaron mediante análisis de conglomerados, logrando agrupar los cultivares según similitud genética en tres grupos, coincidentes con su procedencia. La metodología empleada (SDS PAGE según Reglas ISTA, 1999) resultó un indicador idóneo, de tipo *analítico*, ya que permitió evidenciar la diferenciación varietal buscada. Se proporcionan imágenes de los electroforegramas obtenidos para cada cultivar, y el dendograma que resulta del análisis estadístico mencionado.

Como Conclusión se exponen nuevamente los descriptores mencionados en Capítulo 2, añadiendo los que resultan de la tesis. Se analizan los posibles agrupamientos según tipo de caracteres, y se destacan las coincidencias emergentes según los indicadores utilizados. Se concluye que la caracterización varietal lograda puede contribuir a efectuar eficazmente el análisis de verificación de la identidad de una muestra de semillas.

