

27. Agroalimentario

Mejorando la calidad de las semillas y el rendimiento de la soja mediante el uso de plasmas no térmicos

Pérez Pizá, María Cecilia¹; Prevosto, Leandro²; Zilli, Carla¹; Cejas, Ezequiel²; Héctor Kelly²; Balestrasse, Karina¹

mperez@agro.uba.ar; prevosto@waycom.com.ar; czilli@agro.uba.ar;
hectorjkelly@gmail.com; kbale@agro.uba.ar

¹Universidad de Buenos Aires (UBA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA), Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina

²Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Venado Tuerto, Santa Fe, Argentina.

Resumen

La soja (*Glycine max* (L.) Merrill) es un cultivo de importancia mundial que proporciona aceite y proteínas. Entre los hongos transmitidos por las semillas de soja, el complejo Diaporthe/Phomopsis (D/P) se caracteriza por la producción de enfermedades graves que conducen a grandes pérdidas económicas. Teniendo en cuenta que la siembra de semillas sana garantiza el rendimiento del cultivo, el control de los patógenos transmitidos por ellas resulta de gran interés. Los plasmas no térmicos constituyen una tecnología rápida, económica y ecológica que no solo reduce la presencia de hongos, sino que también mejora la germinación y el crecimiento de las plantas. Las semillas se expusieron a un plasma de descarga de barrera dieléctrica a presión atmosférica. En este trabajo, nos centramos en la capacidad del plasma para mejorar el rendimiento de las plantas a partir del tratamiento de semillas infectadas con el complejo D/P. Se evaluó la calidad de las semillas después del tratamiento y, con ellas, se realizó un ensayo de crecimiento en invernáculo. Al finalizar el mismo, se evaluó el rendimiento (número de vainas, semillas y peso de las 100 semillas) y el contenido de materia seca total de cada unidad experimental. Los resultados mostraron aumentos en el contenido de materia seca, la altura y el diámetro de los tallos. Asimismo, se observaron incrementos en el rendimiento de las plantas provenientes de semillas tratadas con PNT, respecto de sus controles. Se demostró, por primera vez, el efecto positivo de ésta tecnología en el rendimiento de plantas de soja a partir del tratamiento de semillas infectadas antes de la siembra.

Las Palabras clave: Complejo Diaporthe/Phomopsis, Plasma no-térmico, tratamiento de semillas, rendimiento, soja.

Introducción

La producción de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) y de sus derivados es actualmente una de las actividades más importantes de la economía Argentina; en las últimas décadas ha experimentado un crecimiento explosivo logrando un área sembrada de 19 millones de hectáreas y una producción de 57 millones de toneladas métricas en la última campaña (Terré, 2018). Entre los diversos desafíos técnicos que tiene el país respecto de éste cultivo, el adecuado manejo de las enfermedades resulta prioritario ya que permitiría aumentar los rindes en un 20% (Mesquida, 2018). Dado que el buen estado de la semilla garantiza la implantación, el crecimiento y el desarrollo del cultivo, contar con semillas de calidad constituye un factor importante al momento de la siembra. Las condiciones climáticas predominantes en las regiones de cultivo de soja durante los últimos años han contribuido a la intensificación de las enfermedades, imposibilitando la producción de semilla libre de patógenos. El complejo fúngico *Diaporthe/Phomopsis* (D/P) es un grupo de hongos que incluye patógenos “seedborne” de gran importancia económica para la soja: *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *D. aspalathi*, *D. phaseolorum* var. *sojae* y *Phomopsis loingicola*, conocidos por ser los causantes del cancro del tallo de la soja (CTS), del tizón del tallo y la vaina (TTV) y del decaimiento y deterioro de la semilla

(DDS) (Rossi & Ridaó, 2011; Sánchez y col. 2015). Actualmente, el tratamiento de semillas con fungicidas químicos es una de las herramientas agronómicas más empleada por los productores previo a la siembra ya que permiten eliminar organismos patógenos vehiculizados por ellas y prevenir el ataque de otros presentes en el suelo. A nivel mundial, a pesar del gran aumento en el uso de agroquímicos registrado en los últimos 40 años, no han disminuido significativamente las pérdidas en los cultivos (Oerke, 2005). Además, es ampliamente conocido que los agroquímicos permanecen en los productos cosechados y en los campos alterando el estado natural de la flora microbiológica y que su uso intensivo conduce a la aparición de resistencias (Hahn, 2014).

Las descargas eléctricas de baja corriente y presión atmosférica sobre un gas o mezcla de gases producen plasmas no-térmicos (PNT). Los agentes activos de éstos plasmas (radicales libres, iones, especies reactivas y fotones UV) reaccionan con ciertas biomoléculas destruyendo o inactivándolas, lo que convierte a toxinas y microorganismos patógenos en inofensivos. A su vez, dado que la mayor parte de la energía eléctrica aportada se emplea en la generación de electrones energéticos, el gas en el cual se realiza la descarga no se calienta, dando lugar a tratamientos aplicables sobre

objetivos biológicos con distintos fines, sin alterar sus propiedades físicas u organolépticas. Debido a estas especiales características en los últimos años los PNT han encontrado amplia aplicación en biología y medicina (Graves, 2014).

Varios experimentos con PNT han encontrado que los mismos son capaces de inhibir el crecimiento de hongos clínicos (Daeschlein y col. 2014), contaminante de alimentos (Dasan y col. 2016) y fitopatógenos (Zhang y col. 2014). Por su parte, otros estudios han mostrado que los tratamientos de plasma pueden estimular la germinación y el crecimiento de las plantas de diferentes especies (Tong y col. 2014; Stolarik y col. 2015; Ji y col. 2016.; Meng y col. 2017) sin provocar cambios en la estructura de los genes de las semillas (Randeniya y Groot, 2015). Sumado a todo esto, la tecnología de PNT se caracteriza por proporcionar tratamientos uniformes que no requieren el empleo de productos químicos y no producen residuos ambientales. En este sentido, la propuesta de emplear los PNT como tratamiento de semillas antes de la siembra resulta muy prometedora.

La aplicación de PNT para el control de hongos que colonizan el interior de las semillas no ha sido abordada hasta la fecha, como así tampoco los efectos de ésta tecnología sobre el crecimiento y rendimiento de las plantas que provienen de semillas de soja infectadas y tratadas

antes de la siembra. Es por ello que el objetivo del presente estudio fue investigar el efecto del PNT sobre el complejo D/P presente en semillas de soja y los posibles cambios en el crecimiento y el rendimiento de las plantas resultantes.

Objetivos

Con el fin de contribuir al desarrollo, mejoramiento y competitividad de los cultivos comerciales de soja sin provocar contaminación ambiental, el objetivo general de este trabajo fue investigar la factibilidad de implementar la tecnología de plasmas no-térmicos al control de patógenos en semillas de soja y determinar sus efectos sobre el rendimiento del cultivo soja.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA), Buenos Aires, Argentina.

Material vegetal y tratamientos

Se utilizaron dos lotes de semillas de soja de la variedad DM 53i53 IPRO (GRUPO 5 CORTO INTACTA) con distintos niveles de calidad sanitaria: sanas e infectadas con el complejo D/P (18% incidencia). En el laboratorio de la Cátedra de Bioquímica de FAUBA, se analizaron los atributos de calidad de las semillas antes del inicio del ensayo. Muestras de 500 semillas sanas e infectadas fueron sometidas a tratamiento con PNT durante 3 minutos, empleando N₂ y Pertinax-Mylar como barrera dieléctrica. Las semillas sanas sin tratamiento con PNT

se emplearon como control sano (CS), mientras que las infectadas sin tratamiento con PNT constituyeron el control con patógeno (CP). Semillas infectadas tratadas con una dosis de 100 μ l de fungicida curasemilla Maxim® Evolution (Fluodioxinil 2.5g + Metalaxil-M 2.0 g + Tiabendazol 15 g) cada 100 g semilla, conformaron el control con fungicida (CF). Los tratamientos utilizados en el ensayo se muestran en la Tabla 1.

mismas para asegurar un tratamiento uniforme se llevó a cabo mecánicamente. La distancia entre electrodos fue de 10 mm y se utilizó una fuente de alimentación de alto voltaje (0-25 kV) funcionando a 50 Hz. Después de cada tratamiento, las semillas se retiraron de la zona de descarga y se conservaron en recipientes esterilizados y en cámara fría y seca (10°C de temperatura y 60% de humedad relativa del aire) hasta el inicio de los experimentos biológicos.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos.

Grupo	Nombre	Descripción del tratamiento	Tipo de semilla
Tratamientos con PNT	P+PMN3	-Barrera: Pertinax-Mylar -Tiempo de exposición: 3 minutos	Con alta carga de D/P
	S+PMN3	-Gas: N ₂	Sin D/P
Controles	CP	Sin tratamiento con PNT ni fungicida	Con alta carga de D/P
	CF	Sin tratamiento con PNT, con fungicida Maxim® Evolution aplicado antes de la siembra	Con alta carga de D/P
	CS	Sin tratamiento con PNT ni fungicida	Sin D/P

Para el tratamiento de las semillas con PNT, se utilizó una fuente de plasma de tipo DBD (Descargas de Barrera Dieléctrica), con una potencia de entrada de 85 W, utilizando como barrera una lámina Pertinax de 2,5 mm de espesor con 2 películas Mylar de 100 μ m de grosor. Cada tratamiento duró 3 minutos y se empleó N₂ (caudal 6 NI min⁻¹) como gas portador.

En cada caso, se colocaron 500 semillas de soja en la región plasmática activa en la barrera dieléctrica; el movimiento de las

Calidad de las semillas

Todas las determinaciones de calidad de semilla se realizaron sobre 4 repeticiones de 100 semillas.

Para la prueba de sanidad se empleó el método de incubación en medio APD (agar papa dextrosa) bajo condiciones controladas (ciclos alternados de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, a 23-26°C) durante 7-10 días (Scandiani y col, 2009; ISTA, 2017). El porcentaje de semillas infectadas con el complejo D/P (D/P %) fue calculado:

(1) D/P (%) = (Número de semillas infectadas con D/P / número total de semillas sembradas) × 100.

Para la prueba de conductividad eléctrica (CE) se empleó el método masal (ISTA, 2014) y un conductímetro portátil (Thermo Scientific Orion); los resultados se expresaron en $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Las pruebas de poder germinativo se realizaron de acuerdo con las Reglas de Análisis de Semillas (ISTA, 2014); los resultados se expresaron como porcentaje de plántulas normales sobre el total de semillas evaluadas:

(2) G (%) = (Número de plántulas normales / número total de semillas) × 100

El análisis de porcentaje de germinación se realizó según Zhang y col (2017), registrando cada 24 h las semillas germinadas, empleando el criterio de germinación *sensu stricto* (protrusión radical de más de la mitad de la longitud de la semilla).

La tasa de germinación (GR) y el índice de germinación (GI) se calcularon de acuerdo a la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1983).

(3) GR (%) = (Número de semillas germinadas en 6 días / número total de semillas) × 100.

(4) GI = \sum (Número de semillas germinadas en t día / t días desde la siembra).

Experimento en macetas

El experimento en macetas fue conducido en un invernáculo perteneciente al Instituto de Biociencias Agrícolas y Ambientales de

FAUBA, bajo un diseño completamente aleatorizado. Las macetas fueron rotadas diariamente para minimizar los efectos de posición dentro del invernáculo. Cada tratamiento fue repetido quince veces a fin de garantizar la representatividad de los resultados de todas las mediciones; cada unidad experimental fue constituida por dos plantas.

Las macetas se ubicaron sobre mesas de 1 m de largo por 5 m de ancho, distribuidas de manera de lograr 8 macetas (16 plantas) por m^2 . La siembra se realizó el día 1 de diciembre del 2017, luego de inocular las semillas con Signum® Bio-inductor (*Bradyrhizobium* sp) a una dosis de 100 μl cada 100 g de semilla. Las semillas fueron colocadas a una profundidad de 1 cm en macetas que contenían 5 litros de sustrato GROWMIX® MULTIPRO™ (turba de musgo *Sphagnum* de fibras medias, compost de corteza, cal calcita, cal dolomita y agentes humectantes, pH: 4.9, 120 g/kg de nitrógeno, 140 g/kg de P_2O_5 , 240 g/kg de K_2O) mezclado con arena en una relación 10:1 (v/v). Cada maceta fue fertilizada con 12 mg de Superfosfato triple por maceta, a modo de aporte suplementario de fósforo. Las macetas fueron regadas a capacidad de campo diariamente durante la semana previa a la siembra.

Luego de la siembra, las semillas (5 por maceta) fueron tapadas con una fina capa de sustrato y las macetas recubiertas con

bolsas de plástico para garantizar el mantenimiento de la humedad del sustrato. Las bolsas se retiraron al cuarto día desde la siembra. El riego (con agua corriente) se aplicó diariamente dentro de contenedores individuales ubicados debajo de las macetas.

Una semana después de la siembra, las plántulas emergidas fueron raleadas a fin de disponer de dos plantas homogéneas por maceta (unidad experimental). La temperatura dentro del invernáculo durante el experimento fue registrada empleando un data-logger de temperatura (Max. 45.6 °C, Mín. 12.2 °C, Media 27.4 °C).

Doce repeticiones de cada tratamiento fueron cosechadas en la etapa de R8 o maduración completa (según la escala desarrollada por Fehr y Caviness, 1971). Las mismas se utilizaron para medir los parámetros biométricos de las plantas: contenido de materia seca de raíces y tallos, altura de la parte aérea y diámetro de los tallos. Asimismo, se midieron los componentes de rendimiento de cada unidad experimental: número total de vainas, número de semillas y peso de las 100 semillas (con 13,5% H^o).

Análisis estadístico

Todos los datos presentados corresponden al valor medio de la variable \pm error estándar (SE) entre las repeticiones. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete de software

estadístico RCommander versión 3.1.2 (2014).

Después de comprobar el cumplimiento de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas ($p < 0,05$), los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Las comparaciones entre los distintos grupos y los controles se realizaron mediante test de Dunnett ($p < 0,05$).

En las figuras y tablas que se muestran en éste trabajo, distintas letras mayúsculas denotan diferencias estadísticas entre los grupos y el CS, diferentes letras minúsculas muestran diferencias estadísticas entre el tratamiento P+PMN3 y el CP, y diferentes letras minúsculas en cursiva indican diferencias estadísticas entre el tratamiento P+PMN3 y el CF.

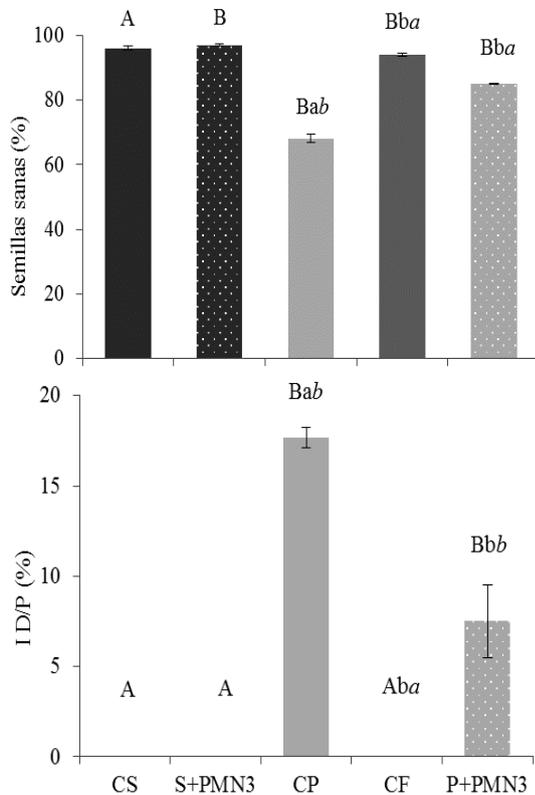
Resultados y Discusión

Calidad de semillas

En una primera etapa, se evaluaron los grupos de semillas en cuanto a la incidencia del complejo D/P (Figura 1) y a los atributos primarios de calidad: germinación (Figura 2) y vigor (Tabla2). Los resultados de incidencia de las semillas enfermas tratadas con PNT (P+PMN3) mostraron un incremento en el número de semillas sanas debido a la merma del 58% en el porcentaje de incidencia del complejo D/P, respecto del control sin PNT (CP). Como puede observarse en la Tabla 2, no se encontraron variaciones en la conductividad eléctrica (liberación de

iones) de las semillas luego del tratamiento con PNT, indicando que el mismo no produjo alteraciones en las membranas celulares de las semillas expuestas. No obstante, se observó un incremento en la conductividad eléctrica en las semillas enfermas (CP) respecto de las sanas (CS).

Figura 1. Efecto del tratamiento con PNT sobre el porcentaje de semillas sanas y el porcentaje de incidencia del complejo D/P.



En la Figura 2, se observa que el tratamiento con PNT fue capaz de mejorar la tasa de germinación (GR) de las semillas sanas (S+PMN3) en un 5% y de las enfermas (P+PMN3) en un 19%, respecto de sus respectivos controles (CS y CP).

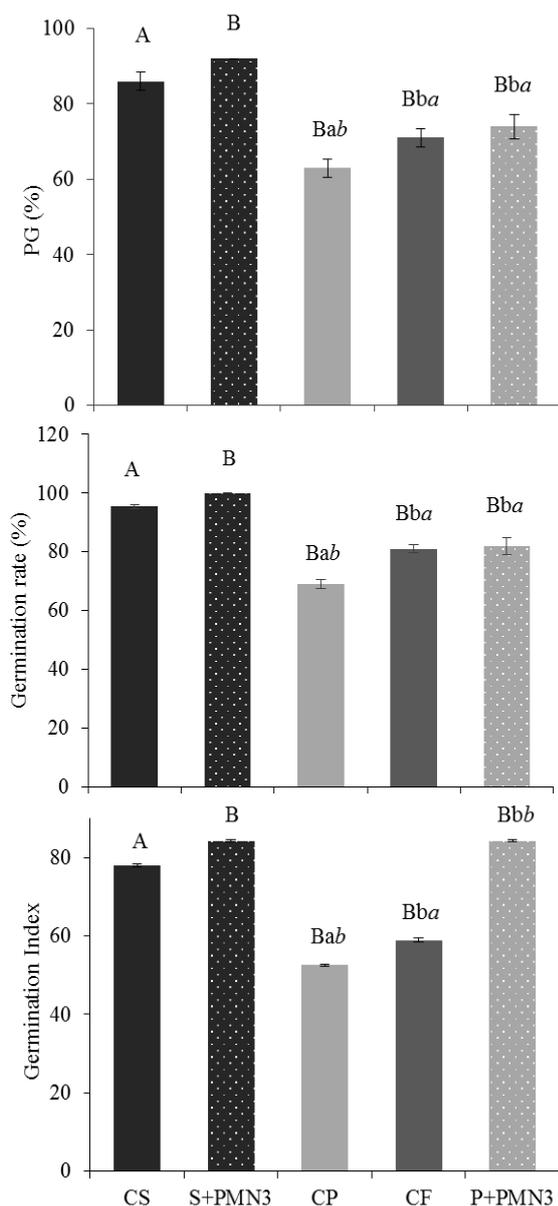
Tabla 2. Efecto del tratamiento con PNT sobre la conductividad eléctrica de las semillas.

Grupo	CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)		
CS	27,67	$\pm 1,45$	A
S+PMN3	26,82	$\pm 1,19$	A
CP	64,36	$\pm 6,85$	Baa
CF	64,36	$\pm 6,85$	Baa
P+PMN3	61,96	$\pm 2,03$	Baa

El poder germinativo (PG) fue mejorado en un 2% en el caso de semillas sanas y en un 17% en semillas enfermas, mientras que el efecto de mejora del índice de germinación (GI) debido al PNT fue de 9% para semillas sanas y 62% para semillas enfermas. Las mejoras observadas después del tratamiento de las semillas con PNT fueron comparables a las observadas en el tratamiento de semillas con fungicida (CF), exceptuando aquellas encontradas para el índice de germinación, donde el PNT fue capaz de incrementar el número de semillas germinadas por día 4 veces más que el tratamiento con fungicida curasemilla. De acuerdo a Fachini Colete y col (2004), la liberación de iones es una medida del potencial fisiológico de las semillas y correlaciona negativamente con la germinación. En éste sentido, resultan destacables las diferencias encontradas entre semillas sanas y enfermas, tanto para vigor (medido por CE) como para los parámetros de germinación. Estas diferencias sugieren que la presencia de D/P produjo deterioro en la calidad de las

semillas, resultado que concuerda con lo propuesto por Wain-Tassi y col (2011).

Figura 2. Efecto del tratamiento con PNT sobre el poder germinativo (PG), la tasa de germinación (GR) y el índice de germinación (GI) de las semillas.



Biometría

Distintas medidas biométricas (contenido de materia seca de tallos y raíces, altura y diámetro de tallos) se tomaron en el estado fenológico de R8 (maduración completa)

sobre plantas crecidas a partir de las semillas tratadas con PNT (Figura 3). El efecto de mejora del PNT sobre el contenido de materia seca en raíces fue del 12% para plantas provenientes de semillas sanas y del 77% para las provenientes de semillas enfermas. La altura total fue 3% mayor en aquellas plantas provenientes de semillas sanas tratadas con PNT y 8% mayor en las provenientes de semillas enfermas tratadas con PNT. El contenido de materia seca en los tallos y el diámetro de los mismos respondió a los tratamientos con PNT de la misma forma que los parámetros anteriores. Estos resultados concuerdan con los encontrados por diferentes autores (Ling y col., 2016; Meiqiang y col. 2005; Jiafeng y col., 2014; Kriz y col., 2017) tras el tratamiento de semillas de distintas especies con PNT. Cabe destacar que los efectos de mejora en los parámetros biométricos de las plantas observados después del tratamiento de las semillas con PNT fueron, en todos los casos, superiores a los observados en el tratamiento de semillas con fungicida (CF).

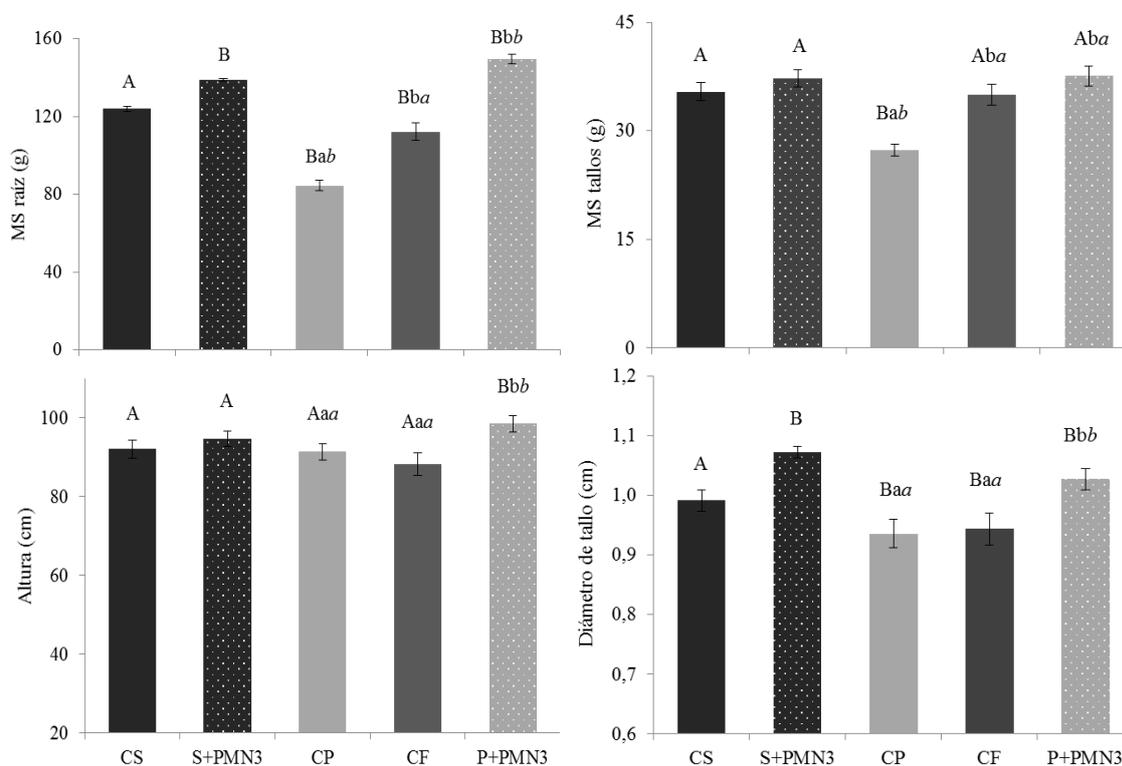
Rendimiento

El número de vainas y el número de semillas por unidad experimental y el peso de las 100 semillas de los distintos grupos estudiados se muestran en la Figura 4. Se observó una respuesta positiva de todos los componentes del rendimiento tras el tratamiento de las semillas con PNT. El

efecto de mejora del PNT sobre el número de semillas por unidad experimental fue del 4% y del 21% para plantas provenientes de semillas sanas y enfermas respectivamente, en comparación con sus controles (CS y CP).

encontrado en los parámetros biométricos, los efectos de mejora del PNT sobre los componentes de rendimiento de las plantas de soja fueron superiores a los correspondientes al tratamiento fungicida curasemilla (CF).

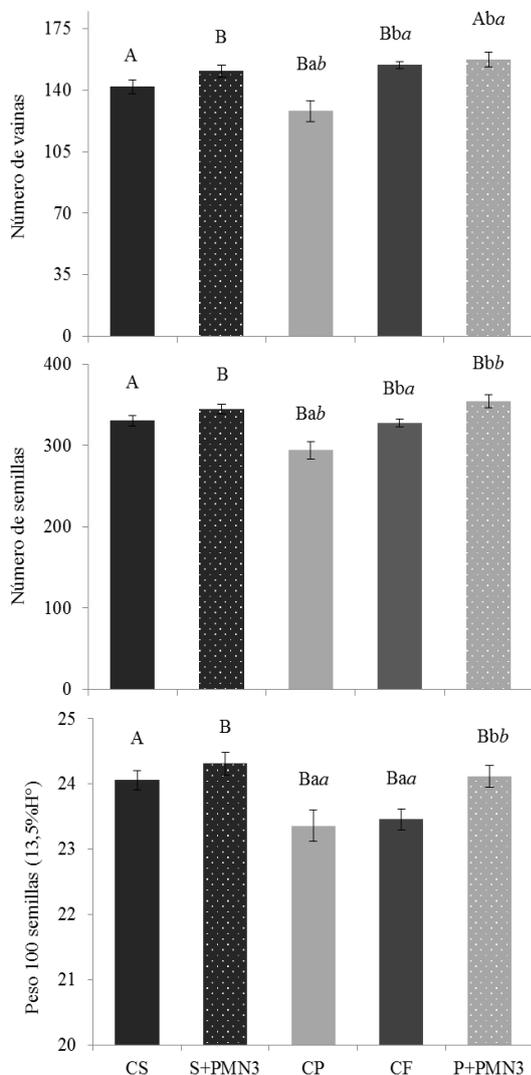
Figura 3. Efecto del tratamiento con PNT sobre el contenido de materia seca (MS) de raíces y tallos, altura y diámetro de tallos de plantas en R8 (maduración completa).



Asimismo, el peso de las 100 semillas (H^0 13.5%) incrementó en un 1% y un 3% en plantas provenientes de semillas tratadas con PNT (sanas y enfermas, respectivamente), respecto de sus controles sin tratar (CS y CP). Resultados similares fueron hallados por Liang y col. (2016) y Jiangfeng y col. (2014) en el rendimiento de plantas de maní y trigo crecidas a partir de semillas tratadas con PNT antes de la siembra. Tal como lo

Los resultados de rendimiento en conjunto con los correspondientes a los parámetros biométricos muestran una mejora sustancial en las plantas provenientes de semillas sometidas a tratamiento con PNT. De las comparaciones del tratamiento P+PMN3 con el control CP, se evidencian efectos de mejora del PNT que podrían atribuirse a la capacidad del plasma de controlar eficientemente la presencia del complejo D/P en las semillas.

Figura 4. Efecto del tratamiento con PNT sobre el número de vainas, número de semillas y el peso de 100 semillas (13,5% H°).



No obstante, los resultados que surgen de las comparaciones de éste tratamiento con el CF demuestran que la merma en la incidencia del complejo D/P debida al tratamiento con PNT no explica por completo los resultados obtenidos, ya que la mejora observada en la mayoría de los parámetros es superior a los efectos mejoradores del tratamiento con

curasemilla. De las comparaciones del tratamiento S+PMN3 y el control CS, se evidencian efectos de mejora atribuibles exclusiva y directamente al tratamiento de semillas con PNT, dada la ausencia de patógenos en éstas semillas.

Conclusión

La creciente demanda mundial de alimentos, atendiendo a los paradigmas de la seguridad alimentaria, la agricultura sustentable y el cuidado del ambiente, plantea a la industria alimentaria el reto de suministrar cantidades progresivas de alimentos, seguros para la salud humana y con el menor impacto ambiental posible. En este sentido, existe en la actualidad un creciente interés en estrategias de manejo de enfermedades en los cultivos y de control de microorganismos en alimentos que no afecten la calidad de los productos ni provoquen daño ambiental. Nuestros resultados demuestran que la tecnología de PNT no solo es eficiente en el control del complejo D/P en semillas de soja, sino que también es capaz de mismas. Lo que resulta aún más promisorio y queda demostrado en éste trabajo, es que los efectos promotores del PNT aplicado a las semillas, perduran en el tiempo y llevan a incrementos significativos en el rendimiento de las plantas de soja.

Por último, consideramos que la implementación de los PNT como práctica agronómica para el curado de semillas abriría la posibilidad de reducir el uso de

agroquímicos contribuyendo, de esta forma, al mejoramiento de la competitividad de los cultivos comerciales de soja sin desmedro de la salud humana y del ambiente.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por proyectos del CONICET (PIP 11220120100453), la Universidad Tecnológica Nacional (PID 4626), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2015 N°1553) y la Universidad de Buenos Aires (UBACYT 20020120100145). K. B., C. Z. y L. P. son miembros de CONICET. E. C. agradece al CONICET por su beca de doctorado. M.C.P.P agradece a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por su beca de doctorado.

Agradecimiento

Agradecemos a Patricia del Fueyo (Laboratorio de Semillas - Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Argentina) y Pablo Grijalba (Fitopatología - Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Argentina) que brindaron apoyo técnico en técnicas de evaluación de calidad de semillas que ayudaron investigación.

Bibliografía

- AOSA. (1983). Seed Vigor Testing Handbook. Association of Official Seed Analysis, Contribution 32 to the handbook on Seed Testing.
- Daeschlein, G., Napp, M., Von Podewils, S., Lutze, S., Emmert, S., Lange, A., y

otros. (2014). In vitro susceptibility of multidrug resistant skin and wound pathogens against low temperature atmospheric pressure plasma jet (APPJ) and dielectric barrier discharge plasma (DBD). *Plasma Process Polym* 11, 175–183.

- Dasan, B. G., Mutlu, M. & Boyaci, I. H. (2016). Decontamination of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* spores on hazelnuts via atmospheric pressure fluidized bed plasma reactor. *International Journal of Food Microbiology* 216, 50-59.
- Fachini Colete, J.C., Vieira, R.D y Dutra, A.S. (2004). Electrical conductivity and soybean seedling emergence. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 61 (4), 386-391.
- Fehr, W. R., Caviness, C. E., Burmood, D. T., & Pennington, J. S. (1971). Stage of Development Descriptions for Soybeans, *Glycine Max (L.) Merrill* 1. *Crop science*, 11(6), 929-931.
- Graves, D. (2014). Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review. *Physics of Plasmas* 21, 080901.
- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: Botrytis as a case study. *Journal of Chemical Biology* 7(4), 133-141.
- ISTA, (2014). The germination test. *International Seed Testing Association*, Volume 2014, Chapter 5.

- ISTA, (2017). Validated seed health testing methods. International Seed Testing Association, Volume 2017, Chapter 7 (7-016).
- Ji, S. H., Choi, K. H., Pengkit, A., Im, J. S., Kim, J. S., Kim, Y. H., & Park, G. (2016). Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 605, 117-128.
- Jiafeng, J., Xin, H., Ling, L. I., Jiangang, L., Hanliang, S., Qilai, X., ... & Yuanhua, D. (2014). Effect of cold plasma treatment on seed germination and growth of wheat. *Plasma Science and Technology*, 16 (1), 54.
- Kriz, P., Olsan, P., Havelka, Z., Bartos, P., Bohata, A., Strejckova, M., ... & Spatenka, P. (2017). Enhancement of the yield of rape seeds by plasma discharge and biological protection: Field experiments. In *Optimization of Electrical and Electronic Equipment (OPTIM) & 2017 Intl Aegean Conference on Electrical Machines and Power Electronics (ACEMP), 2017 International Conference on* (pp. 1045-1050). IEEE.
- Ling, L. I., Jiangang, L. I., Minchong, S. H. E. N., Jinfeng, H., Hanliang, S., Yuanhua, D., & Jiafeng, J. (2016). Improving seed germination and peanut yields by cold plasma treatment. *Plasma Science and Technology*, 18 (10), 1027.
- Meiqiang, Y., Mingjing, H., Buzhou, M., & Tengcai, M. (2005). Stimulating effects of seed treatment by magnetized plasma on tomato growth and yield. *Plasma Science and Technology*, 7 (6), 3143.
- Meng, Y., Qu, G., Wang, T., Sun, Q., Liang, D. & Hu, S. (2017). Enhancement of germination and seedling growth of wheat seed using dielectric barrier discharge plasma with various gas sources. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 37(4), 1105-1119.
- Mesquida, F. Soja: las enfermedades de fin de ciclo pueden afectar hasta un 30% del rinde 30.01.2018. En: www.infocampo.com.ar
- Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Randeniya, L. K., & de Groot, G. J. (2015). Non-Thermal Plasma Treatment of Agricultural Seeds for Stimulation of Germination, Removal of Surface Contamination and Other Benefits: A Review. *Plasma Processes and Polymers* 12 (7), 608-623.
- Rossi, M. E. y Ridao, A. del C. 2011. Principal variante del complejo Diaporthe/Phomopsis (D. p. var. *caulivora*) vehiculizada por la semilla de soja en el centro sur de la provincia

- de Buenos Aires. *Análisis de Semillas*, Tomo 5, Nº 20: 80-91.
- Sánchez, M. C., Ridao, A. D. C. & Colavita, M. L. (2015). *Diaporthe caulivora*: agente causal de cancro del tallo predominante en cultivos de soja del sudeste bonaerense. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 14 (2).
- Scandiani, M.M., Luque, A.G. (2009). Identificación de patógenos en semilla de soja. *Análisis de Semillas. Suplem. Especial Nº2*, 51-52.
- Stolárik, T., Henselová, M., Martinka, M., Novák, O., Zahoranová, A., Černák, M., (2015). Effect of low- temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.). *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 35 (4), 659-676.
- Terré, E. (2018). Balance de oferta y demanda de soja en Argentina. Retrieved from: www.bcr.com.ar.
- Tong, J.Y., He, R., Zhang, X.L., Zhan, R.T., Chen, W.W., Yang, S.Z. (2014). Effects of atmospheric pressure air plasma pretreatment on the seed germination and early growth of *Andrographis paniculata*. *Plasma Sci Technol* 16, 260–266.
- Wain-Tassi, A. L., Santos, J.F., Panizzi,, R.C., y Vieira, R.D. (2012). Seed-borne pathogens and electrical conductivity of soybean seeds. *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)* 69 (1), 19-25.
- Zhang, J. J., Jo, J. O., Mongre, R. K., Ghosh, M., Singh, A. K., Lee, S. B., ... & Jeong, D. K. (2017). Growth-inducing effects of argon plasma on soybean sprouts via the regulation of demethylation levels of energy metabolism-related genes. *Scientific Reports*, 7, 41917.
- Zhang, X., Liu, D., Zhou, R., Song, Y., Sun, Y., Zhang, Q. & Yang, S. Z. (2014). Atmospheric cold plasma jet for plant disease treatment. *Applied Physics Letters* 104 (4), 043702.