

Scheda tecnica per l'analisi del vigore delle sementi Il test a freddo (Cold Test)

Alessandra Arioli, Luca Cassinetti, Nicolò Enea, Rossella Spelta, Elena Perri, Rita Zecchinelli



Al Laboratorio viene spesso richiesta una valutazione del vigore del seme, cioè della sua capacità a germinare in condizioni ambientali diverse, a completamento della classica analisi di germinabilità che invece esprime il massimo potere germinativo del campione in analisi. Il vigore del seme, infatti, non può essere descritto e misurato come una singola caratteristica, ma rappresenta il prodotto di quei fattori che insieme determinano il comportamento del seme posto a germinare in condizioni anche avverse o dopo un periodo più o meno lungo di conservazione. Il "Cold Test" (o test a freddo) costringe il seme a resistere all'esposizione prolungata alle basse temperature ed avere la forza di emergere dal substrato, simulando condizioni di campo avverse che contribuiscono a ridurre la velocità e la percentuale di germinazione (terreni freddi, umidi, compattati). In particolare, vengono riprodotte le possibili condizioni a cui il seme può essere esposto nel caso di semine primaverili precoci e per questo il metodo si presta particolarmente alla valutazione del vigore del seme in specie quali *Zea mays*, *Glycine max*, *Helianthus annuus* e *Sorghum* spp., ma può essere applicato anche per altre specie su richiesta del richiedente. Molti studi hanno dimostrato una stretta correlazione fra i risultati del Cold Test e l'emergenza in campo.

La determinazione del vigore attraverso il Cold Test, viene effettuato in Laboratorio con un metodo interno messo a punto nel corso degli anni sulla base della bibliografia esistente, a partire da una pubblicazione ISTA ormai datata, ma per l'argomento di interesse tuttora valida (*ISTA Handbook of Vigour Test Methods, 3rd Edition, 1995*). In effetti, il Cold Test rappresenta il primo metodo di analisi proposto per valutare il vigore del seme (le prime pubblicazioni scientifiche risalgono agli anni '40 del secolo scorso), ma è ampiamente utilizzato nei laboratori di tutto il mondo ancora oggi, in particolare per la specie mais.

È interessante sottolineare che il metodo non è stato mai oggetto di studio di validazione internazionale perché la sua standardizzazione è resa impossibile dall'impiego, tra i materiali,

di terra che si richiede sia tipica del territorio di coltivazione dei lotti oggetto di studio. Il motivo risiede nella necessità di includere la presenza di microrganismi anche patogeni per la specie, tra i fattori rilevanti per discriminare lotti di diverso vigore.

Tecnica

Per l'effettuazione dell'analisi, il Laboratorio si dota di terra prelevata dal campo. Questa viene stoccata in appositi contenitori dove perde umidità e si asciuga. Vengono rimosse solo le parti grossolane, quali sassi, zolle d'erba, residui vegetali.

Il substrato per il Cold Test viene preparato utilizzando terra e sabbia in proporzioni uguali. Alla miscela di terra e sabbia viene aggiunta la quantità di acqua necessaria per raggiungere idoneo grado di umidità (a titolo orientativo, 1 litro di acqua ogni 10 kg di miscela sabbia/terra). Il quantitativo preparato è stabilito dagli analisti, a seconda del numero di campioni da porre in germinazione. Il substrato di terra/sabbia e acqua viene quindi miscelato accuratamente, ad esempio con l'ausilio di una betoniera per alcuni minuti.

I materiali utilizzati presso il laboratorio CREA DC di Tavazzano sono i seguenti.

Sabbia silicea	Dotazione utilizzata per le prove di germinabilità
Terra	Di campo
Palette	In acciaio o materiale idoneo
Apparecchio miscelatore	Betoniera ad asse verticale
Acqua	Di rubinetto
Bacher	In plastica, dimensioni diverse

Preparazione del substrato

1. Il contenitore per la miscelatura, viene caricato con terra di campo e sabbia nelle stesse proporzioni.
50 % di terra
50% di sabbia.



2. La betoniera viene azionata per effettuare una prima miscelatura dei 2 componenti per il tempo necessario (circa 5 minuti).



3. Quando la miscela è sufficientemente omogenea, viene aggiunta acqua gradatamente in modo da non generare dei blocchi. La betoniera è in funzione per mantenere la miscelatura di tutti i componenti.



4. Il substrato ottenuto è uniformemente miscelato e pronto per l'utilizzo.



Semina dei campioni

Il campione di analisi viene conteggiato in 4 repliche da 100 semi ciascuna. Il seme viene posto a germinare su un substrato di circa 1 cm della miscela ottenuta come sopra descritto. Dopo averlo leggermente pressato su questo strato, il seme viene ricoperto con un secondo strato di circa 1-2 cm. I campioni vengono posti ad una temperatura compresa tra 5 e 10 °C e al buio per 7 giorni: Queste condizioni simulano quelle di una semina primaverile precoce, quando in pieno campo possono ancora manifestarsi temperature ben più basse rispetto a quelle ottimali, ad esempio per la germinazione delle sementi di mais.

I materiali utilizzati presso il laboratorio CREA DC di Tavazzano in fase di semina sono i seguenti.

Campione	400 semi	4 repliche da 100
Germinatoi	Bacinelle in plastica circa 20 X 25 X 5 cm	1 per ogni replica
Tampone/Pestello	Per comprimere i semi sul/nel substrato	-
Palette	In acciaio o altro materiale	-
Coperchi	Per ricoprire i germinatoi (anche impilati)	-
Frigorifero	Tra i 5° e 10°C	Buio

5. Preparazione del primo strato di circa 1 cm all'interno del germinatoio.



6. Semina del campione in modo uniforme e distanziando il più possibile i semi. In ogni bacinella viene seminata una replica.



7. Dopo la semina, si effettua una leggera pressione con l'ausilio di un pestello in modo da far aderire bene il seme al substrato.



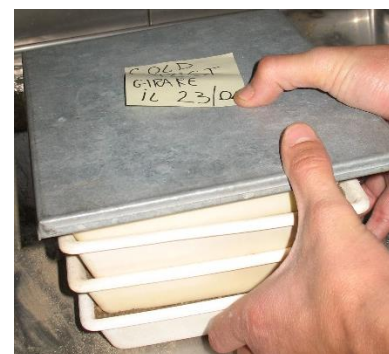
8. Si ricopre il seme con un secondo strato di miscela di circa 1 o 2 cm distribuendolo in modo uniforme.



9. I campioni posti nei germinatoi sono pronti per essere esposti al freddo.



10. I campioni vengono posti con un coperchio all'interno di un frigorifero o cella frigorifera con temperatura fra 5 e 10°C per 7 giorni.



Trascorsi i 7 giorni di esposizione al freddo, i campioni vengono trasferiti nella cella climatica regolata alla temperatura prevista per il campione in analisi, facendo riferimento ai Metodi Ufficiali o alle Norme ISTA anche per quanto concerne la durata dell'analisi. Per la valutazione delle plantule, si procede come per le analisi di routine, sempre facendo riferimento ai metodi nazionali e internazionali e alle descrizioni presenti in bibliografia, in particolare nella pubblicazione "*ISTA Handbook on Seedling Evaluation*" (<https://www.seedtest.org/en/product-----13.html>). Anche il laboratorio CREA DC di Tavazzano ha pubblicato alcune schede tecniche che possono essere liberamente consultate (<https://www.crea.gov.it/web/difesa-e-certificazione/pubblicazioni-istituzionali-e-schede-tecniche>).



Risultati

I risultati di un Cold Test vengono calcolati, verificati ed espressi come quelli di un'analisi di germinabilità. Il risultato finale è rappresentato dalla percentuale in numero di germinelli normali, anormali, semi morti ed eventualmente semi freschi e semi duri (tuttavia, queste due ultime categorie di norma non si manifestano nei campioni delle specie interessate al test a freddo). Le percentuali sono espresse dalla media delle 4 repliche per ogni categoria di classificazione. La verifica statistica dei risultati è realizzata con il ricorso alle tabelle delle tolleranze presenti nelle Norme ISTA in vigore.

Può essere interessante affiancare al Cold Test anche un "test a caldo" (prova standard di germinabilità), grazie al quale si potranno evidenziare lotti che possono esprimere un buon livello di germinazione solo se la semina avviene in condizioni ottimali e lotti dotati di un buon vigore che potranno rispondere in modo soddisfacente anche nel caso di situazioni pedoclimatiche critiche.