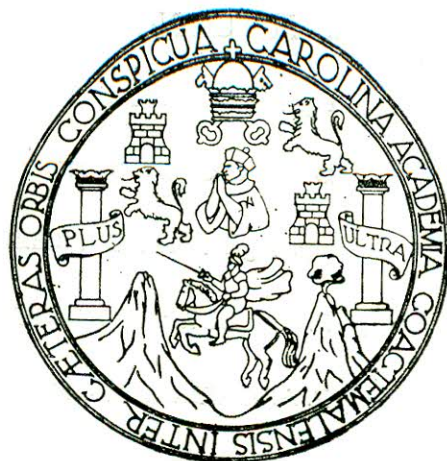


01
T(240)
C. 1

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

**Comparación y Evaluación de Tres Métodos para Determinar la
Germinación en Semillas**



TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de
Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por

MAX EDGAR ZEPEDA CHAVARRIA

En el acto de Investidura como

INGENIERO AGRONOMO

En el Grado Académico de

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Agosto de 1977.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA
DEPARTAMENTO DE TESIS-REFERENCIA**

PARA REFERENCIA

NO SE PUEDE SACAR DE LA BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. ROBERTO VALDEAVELLANO P.

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO EN FUNCIONES:

VOCAL I: Ing. Agr. RODOLFO ESTRADA G.
VOCAL II: Dr. ANTONIO SANDOVAL
VOCAL III: Ing. Agr. SERGIO MOLLINEDO
VOCAL IV: P. A. LAUREANO FIGUEROA
VOCAL V: P. A. CARLOS LEONARDO
SECRETARIO: Ing. Agr. LEONEL CORONADO

TRIBUNAL QUE EFECTUO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO a.i. Ing. Agr. MARIO MOLINA LI.
EXAMINADOR Ing. Agr. RODOLFO ESTRADA G.
EXAMINADOR Ing. Agr. SILVIA DAVILA
EXAMINADOR Lic. MANUEL VEGA
SECRETARIO Ing. Agr. EDGAR L. IBARRA

REPUBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA
Y FOMENTO RURAL
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERAS DE AGRICULTURA
Y ZOOTECNIA

REPUBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA
Y FOMENTO RURAL
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERAS DE AGRICULTURA
Y ZOOTECNIA

Guatemala, 27 de julio de 1977.

Señor Decano en Funciones de la
Facultad de Agronomía
Ing. Agr. Rodolfo Estrada G.
Presente.

Señor Decano:

Tengo el agrado de informar a usted, que he asesorado el trabajo de tesis del estudiante Max E. Zepeda Ch., titulado "COMPARACION Y EVALUACION DE TRES METODOS PARA DETERMINAR LA GERMINACION DE SEMILLAS".

Hago constar que para la realización del trabajo en mención, se solicitó la valiosa colaboración de la Ing. Agr. Marie Storek, profesora del Curso de Tecnología de Semillas adscrito al Departamento de Horticultura.

De tal manera que concluido el trabajo y revisado el manuscrito considero que llena todos los requisitos para ser aprobado como tesis de grado.

En tal virtud solicito su visto bueno para que sea publicada.

Deferentemente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. MSc. Carlos H. Aguirre C.

Director Departamento Horticultura

ASESOR.

Guatemala, 27 de julio de 1977.

Señor Decano de la Facultad de Agronomía
Ing. Agr. Rodolfo Estrada González
Ciudad Universitaria.

Señor Decano:

Por este medio me permito hacer de su conocimiento que cumpliendo con la solicitud que se me hiciera, he asesorado al estudiante Max Edgar Zepeda Chavarría, en su trabajo de tesis titulado "COMPARACION Y EVALUACION DE TRES METODOS PARA DETERMINAR LA GERMINACION DE SEMILLAS".

Considero que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por la Universidad de San Carlos, para el efecto.

Atentamente,

Ing. Agr. Marie Storek

CATEDRATICA TECNOLOGIA SEMILLAS

ASESORA.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

Máximo Zepeda Martínez

Carmen Chavarría de Zepeda

A MI ESPOSA

Dina Elvira Falla de Zepeda

A MIS HERMANOS

Gloria Estela

Irma Yolanda

María del Carmen

Otto Erick

Diana Ruth

Walter David

Rudý Humberto

Ricardo Francisco

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

TESIS QUE DEDICO

A MI PATRIA GUATEMALA

A LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA

AL CAMPESINO DE GUATEMALA

AGRADECIMIENTO

QUIERO MANIFESTAR MI SINCERO AGRADECIMIENTO A LAS SIGUIENTES PERSONAS Y ENTIDADES QUE COLABORARON EN LA REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO:

INGS. AGRS. ALVARO KLEE Y JOSE M. DEL VALLE

INGS. AGRS. MARY STOREK Y CARLOS AGUIRRE

ING. AGR. EFRAIN BRAN

PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE CONTROL Y CERTIFICACION DE SEMILLA DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA.

Y ESPECIALMENTE A DIANA RUTH ZEPEDA CHAVARRIA Y DANILO ARTURO ZECEÑA POR SU COLABORACION DESINTERESADA EN LA ELABORACION DE ESTA TESIS.

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento de las normas académicas establecidas por la Universidad de San Carlos de Guatemala, es para mí alto honor, someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado: **EVALUACION Y COMPARACION DE TRES METODOS PARA DETERMINAR LA VIABILIDAD EN SEMILLAS**, como requisito previo para optar al título de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Atentamente,

MAX EDGAR ZEPEDA CHAVARRIA

CONTENIDO

- I. INTRODUCCION
- II. REVISION DE LITERATURA
 - II.1 QUE ES LA SEMILLA CERTIFICADA
 - II.2 IMPORTANCIA DE LA SEMILLA CERTIFICADA
 - II.3 ANALISIS DE LABORATORIO
 - PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINAR LA GERMINACION
 - II.3.1 MUESTREO
 - II.3.2 DETERMINACION DE HUMEDAD
 - II.3.3 ANALISIS DE PUREZA
 - II.3.4 ANALISIS DE GERMINACION
 - a) GERMINADOR
 - b) CAJAS DE ARENA
 - II.3.5 INTERPRETACION DE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE ARROZ, FRIJOL, MAIZ Y PINO ANALIZADAS EN CAJAS DE ARENA Y GERMINADORES
 - II.3.6 ANALISIS DE VIABILIDAD (METODO BIOQUIMICO, TETRAZOLIUM)
 - II.3.7 INTERPRETACION DE LA PRUEBA CON TETRAZOLIUM
- III. MATERIALES Y METODOS
 - III.1 UBICACION DEL ENSAYO
 - III.2 MATERIAL EXPERIMENTAL
 - III.2.1 TRABAJO EN LABORATORIO
 - III.2.2 TRABAJO EN INVERNADERO
 - III.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL
 - III.3.1 MANEJO DE LOS EXPERIMENTOS
- IV. RESULTADOS Y DISCUSION
 - IV.1 MAIZ
 - IV.2 FRIJOL
 - IV.3 ARROZ
 - IV.4 PINO

IV.5 CONSIDERACIONES GENERALES

V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

V.1 MAIZ

V.2 FRIJOL

V.3 ARROZ

V.4 PINO

V.5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

VI. BIBLIOGRAFIA

VII. APENDICE

I. INTRODUCCION

La semilla es, no solamente un artículo importante en el comercio, sino también un producto básico en la agricultura, esencial para obtener buenas cosechas y mantener la perpetuación de muchísimas especies vegetales.

Botánicamente, la semilla es el óvulo fecundado y maduro, y hablando agrícolamente, la semilla es cualquier parte de una planta capaz de producir y desarrollar otra.

Un examen visual no es suficiente para determinar la calidad de las semillas, por lo que es necesario efectuar una serie de análisis, ensayos o pruebas de laboratorio.

Los análisis de semillas se han ideado y perfeccionado con el objeto de prestar una ayuda a la agricultura, evitando de esta manera riesgos inherentes a las cosechas, al proporcionar información sobre cuáles semillas pueden ser utilizadas para la siembra.

Esta información puede convenir al productor o vendedor de semillas, según el trato que le dé para la venta, de guía para el comprador con fines de siembra y también es una base legal para fines de control y certificación de semillas.

En todo caso el objetivo final de los análisis o ensayos de semillas, es determinar el valor de las mismas para la siembra, es decir que a través de estas pruebas obtenemos valiosa información sobre el porcentaje de germinación, de semillas duras y muertas, así como también sobre el grado de vigor.

La propagación de semillas implica el manejo cuidadoso de las condiciones y facilidades para la germinación, así como un conocimiento de las clases individuales de semillas. Su éxito depende del grado en que se llenen estas condiciones:

- a) La semilla debe reproducir la especie o variedad en particular que se desea propagar. Esto puede ser logrado obteniendo la semilla de un establecimiento de confianza y comprando semilla certificada, o si es producida por el propagador, siguiendo los principios de selección de semilla.
- b) La semilla debe ser viable y capaz de germinar. También debe germinar con vigor para resistir las posibles condiciones adversas del campo. La viabilidad puede ser determinada con el ensayo de semillas.
- c) Cualquier condición de latencia que pueda inhibir la germinación debe ser superada con la aplicación del tratamiento de pregerminación que

sea necesario. El propagador debe conocer las exigencias de la semilla que le interesen. Una prueba de germinación es útil para indicar si se necesita cualquier tratamiento de pregerminación.

En una prueba de germinación (cámaras de germinación) las semillas se colocan bajo condiciones ambientales óptimas para inducir la germinación. Las condiciones requeridas para estas pruebas han sido especificadas en las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas (ISTA), las cuales proveen información para diferentes clases de semillas.

Existen varias técnicas utilizadas en la conducción de pruebas de germinación. En los laboratorios de semillas, éstas usualmente son colocadas en bandejas de germinación, ya sea entre 2 toallas de papel absorbente o sobre una sola y luego puestas en la cámara de germinación, donde la temperatura, la humedad y la luz, pueden ser controladas.

Las pruebas de germinación pueden durar de 10 días a cuatro semanas, pero pueden durar hasta tres meses, en el caso de semillas cuya germinación es muy lenta. Como puede observarse para la prueba de germinación, el tiempo es bastante largo. En el caso de utilizar las cajas de arena, por estar bajo condiciones del medio ambiente, el tiempo se retarda todavía más, aunque el porcentaje de germinación así determinado es mucho más confiable, debido a que presenta condiciones muy parecidas a las del campo.

Los períodos relativamente largos que se requieren para llevar a cabo las pruebas de germinación, han obstaculizado el progreso hacia la mayor eficiencia en la obtención de buenas plantas para siembra y las operaciones de venta. Otros factores que afectan la calidad de las semillas, tales como la pureza, la frecuencia en la aparición de semillas nocivas de malezas y el contenido de humedad, pueden evaluarse en pocos minutos.

Sin embargo, debido a que la semilla es de utilidad solamente si un porcentaje relativamente alto de ella es viable, "las decisiones respecto a procedimientos de procesamiento, almacenamiento y disposición de los lotes de semilla deben basarse ya sea en la intuición o en la experiencia, o bien posponerse durante días o semanas hasta que se tengan resultados de la prueba de germinación".

La prueba bioquímica para determinar la viabilidad de la semilla con Tetrazolium* puede establecer una base digna de confianza para tomar decisiones respecto a la viabilidad de las semillas, en una forma más rápida, ya que por falta de tiempo, equipo y personal técnico, el Estado y las empresas privadas, venden semillas sin ser analizadas previamente no importándoles que hayan estado almacenadas durante tiempos prolongados. La prueba rápida con Tetrazolium sería conveniente y beneficiosa debido a que daría mayor confiabilidad a productores, vendedores y agricultores.

* Cloruro de 2,3,5 Trifenil Tetrazolium

La prueba con Tetrazolium, se conoce desde hace más de 15 años, sin embargo no ha encontrado aplicación general en la industria de la semilla o en los laboratorios de ensayo. La limitada aplicación de la prueba puede atribuirse probablemente a que no disponen de información acerca de ella, todos aquellos que la necesitan en máximo grado o sea los hombres dedicados a las semillas o los analistas.

Se le objetan varias limitaciones a la prueba con Tetrazolium, como por ejemplo que aún cuando los resultados de dicha prueba pueden obtenerse en periodos relativamente cortos, requiere un total de horas-hombre de trabajo, mayor que la prueba de germinación. También que en aquellas cosechas que tienen semillas duras, la prueba con Tetrazolium no indica la proporción de semillas duras en la muestra.

Por lo anteriormente expuesto, en este trabajo se han comparado tres métodos: Prueba de germinación en germinadores, en cajas de arena y prueba de viabilidad con Tetrazolium (bioquímico), para determinar si el último es confiable o no, y si puede ser utilizado como prueba general y regular en los ensayos de laboratorio, ya que por no existir en el país laboratorios equipados, y por ser la inversión inicial para montarlos demasiado alta, este método resultaría práctico y económico.

Para elio el presente trabajo se realizó tomando en cuenta los siguientes objetivos:

- 1.—Determinar el grado de confiabilidad (establecer si existen diferencias significativas) de la prueba de viabilidad con Tetrazolium en los análisis de germinación de granos básicos y pino, haciendo una comparación con los métodos tradicionales.
- 2.—Establecer si es conveniente, desde el punto de vista de las horas-hombre utilizadas en las pruebas con Tetrazolium en relación con las pruebas realizadas en cámaras de germinación y cajas de arena.

La investigación se realizó en el laboratorio central de semillas del Departamento de Control y Producción de Semillas, Dirección de Desarrollo Agrícola, DIGESA, y en el Invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

II. REVISION DE LITERATURA

II.1 QUE ES LA SEMILLA CERTIFICADA:

Es aquella producida a partir de materiales mejorados de origen conocido y suficientemente probados en el campo. La semilla es inspeccionada durante el cultivo, la cosecha, el beneficio y el almacenamiento, dando como resultado una semilla que es garantía de buena calidad.(8)

Los principales objetivos de la certificación de semillas son conservar y poner a disposición de los interesados, semillas, bulbos o tubérculos para siembra que tienen buen valor como semilla y que son de la variedad que se indica. Para lograr esos propósitos, la oficina certificadora de semillas determina la elegibilidad de una variedad para ser certificada. Establece las normas de producción respecto al aislamiento, presencia de plantas fuera de tipo y calidad de la semilla cosechada, haciendo inspecciones de los campos de producción con intervalos regulares para cerciorarse de que esas normas se han mantenido. También supervisa el procesado o beneficio de la cosecha(1). Como los requisitos específicos para certificación pueden variar de un lugar a otro, se deben consultar las disposiciones locales. Esas disposiciones generalmente especifican las variedades que pueden ser certificadas, el aislamiento exigido para cada cultivo en particular, número de inspecciones necesarias y las normas de calidad para la semilla después de cosechada.

En la producción comercial de semillas, la pureza genética la frecuencia se mantiene por medio de un sistema de certificación de semillas.

La mecánica de mantener la pureza genética se facilita estableciendo ciertas clases de semillas que deben mantenerse en diferentes niveles de pureza (10, 14),.

Esas clases son las siguientes:

—Semilla original o básica: semilla o material inicial de propagación vegetativa, variedad o raza producida por plantas individuales, clon, selección masal de plantas o clones, por autofecundación controlada o por polinización cruzada controlada, producida o supervisada por el genetista. Sirve para formar la semilla de fundación.

—Semilla de fundación: Primera generación de la semilla producida bajo control de un organismo certificado y manejada de tal forma

que asegure su identidad y pureza genética y que cumpla con requisitos sanitarios y físicos pre-establecidos.

—Semilla registrada: es la pregenie avanzada de semilla de fundación, producida en condiciones que garanticen su pureza genética.

—Semilla certificada: producto final del proceso de certificación, progenie de la semilla registrada y que ha sido manejada en forma adecuada para mantener una identidad genética y pureza satisfactoria y que ha sido aprobada y certificada por la oficina certificadora.

La semilla certificada es la clase que se cultiva en mayor volumen, para ser puesta en el mercado y vendida a los agricultores. Los sacos de semilla certificada llevan fijada, con un sello metálico, una etiqueta azul distribuida por la oficina certificadora como prueba de la identidad genética y de la pureza de la semilla que contienen. Los sacos de semilla registrada se marcan con una etiqueta púrpura o con una etiqueta azul con la palabra registrada. En forma similar, la semilla básica y de fundación se identifica con una etiqueta blanca (10, 12).

II.2 IMPORTANCIA DE LA SEMILLA CERTIFICADA:

Las variedades mejoradas son un factor determinante para incrementar la producción por unidad de superficie. Así lo demuestra la experiencia de los agricultores de muchas partes de Guatemala, así como de otros países, que disponen de variedades mejoradas de los diversos cultivos producidas en sus programas nacionales de investigación o introducidas a otros países.

En Guatemala, para su certificación se consideran únicamente las variedades autorizadas por instituciones como el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), correspondiendo la certificación al Departamento de Control y Producción de Semillas del Ministerio de Agricultura, de acuerdo con la ley sobre producción, certificación y comercialización de semillas. Las semillas certificadas que en el campo cumplieron con las normas para un cultivo deben analizarse en el laboratorio. En él se determina la pureza y el poder germinativo de la semilla.

En el laboratorio se puede comprobar si la semilla satisface o no las normas específicas para el cultivo a fin de otorgar la certificación.

Para determinar la calidad de las semillas se han desarrollado procedimientos que permiten en una muestra evaluar su capacidad po-

tencial para producir plantas.

Por otro lado tenemos que la función principal de los genotecnistas es la de producir nuevas variedades de plantas, con mayor capacidad de producción y mejor calidad, para poder satisfacer las necesidades del hombre. A través de los mismos procedimientos se han discutido diferentes maneras de alcanzar tales objetivos, indicándose al mismo tiempo, los casos en que ésto es posible, cuáles son los métodos más eficientes, los obstáculos que presentan, etc. No obstante, el trabajo del genotecnista e inclusive su posible éxito al haber logrado una variedad de alta productividad y alta calidad estarían completamente perdidos si no se dispone de un sistema que lleve a los agricultores las nuevas variedades así obtenidas. Los individuos y las instituciones que después de obtener una variedad mejorada genéticamente la guardan para sí mismos o no encuentran la manera de hacerla llegar a los agricultores, fracasan definitivamente en su misión (2).

Esto significa que tanto las instituciones de tipo comercial o estatal, como las instituciones o asociaciones que pudieran dedicarse al mejoramiento genético de las plantas, tienen que estar complementadas por otras organizaciones que lleven hasta los agricultores los resultados de la creación de nuevas variedades, comparadas con las variedades comerciales ordinarias y que posteriormente pongan a su disposición la cantidad de semilla necesaria para la siembra comercial.

La producción y distribución de la semilla a nivel comercial es extraordinariamente importante y está directamente relacionada con la genotecnia vegetal, ya que a través de ella se puede conservar y multiplicar la semilla original con todas las cualidades que la hacen superior a la semilla de las variedades ya existentes o también se pueden perder tales cualidades, haciendo que la nueva variedad no solo deje de ser superior a las ya existentes, sino que puedan caer hasta un nivel inferior (2).

Es aquí donde se hace necesario la intervención de instituciones encargadas de mantener las cualidades de la semilla por medio de la certificación.

Un programa de certificación de semillas aporta los siguientes beneficios:

- Aumento en rendimiento por unidad de área.
- Aumento en rendimiento sin introducción de otras tecnologías.
- Uniformidad en la emergencia y en la madurez de plantas.
- Utilización más eficiente de insumos.

- Reducción de cantidad de semilla necesaria por unidad de área.
- Menor posibilidad de contaminación en la población con otras variedades o cultivos.
- Reducción de contaminación de malas hierbas.
- Mayor facilidad en reemplazar variedades por tipos nuevos superiores (2, 8).

Por las explicaciones que anteceden, se puede deducir fácilmente las ventajas de utilizar semilla certificada. La semilla es el más barato de los insumos, pero el más caro cuando se usa de mala calidad (8).

II.3 ANALISIS DE LABORATORIO

—PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINAR LA GERMINACION

La semilla de buena calidad tiene las características siguientes:

- Reproduce fielmente la especie.
- Tiene capacidad para una germinación elevada.
- Está libre de enfermedades e insectos.
- Está exenta de mezclas con otras semillas de cultivos, semillas de malezas y de material extraño e inerte (12). “La capacidad de germinación y la pureza de las semillas pueden ser determinadas haciendo un análisis en una pequeña muestra representativa del lote en cuestión” (12).

En Guatemala las Normas Reglamentarias para la producción, certificación y comercialización de semillas agrícolas y forestales regulan las importaciones, exportaciones y la venta de semillas agrícolas y forestales, dictando una serie de disposiciones tendientes a que la semilla que se comercialice llene los requisitos indispensables. Es así como en la parte relacionada con el mercado interno de semillas de dichas normas toma en cuenta los siguientes aspectos:

“Artículo 6o. No podrá venderse ninguna semilla agrícola como semilla certificada, si no ha sido previamente certificada por el Departamento de Control y Producción de Semillas” (10).

“Artículo 7o. Ninguna semilla agrícola podrá ofrecerse al público como semilla certificada, si no lleva la etiqueta respectiva conteniendo la siguiente información:

- a. Nombre y dirección de la persona que etiquetó la semilla o que vende la semilla contenida en el envase. En su defecto, el número de registro, el cual ha de coincidir con el que obra en los

archivos del Departamento de Semillas.

- b. Clase y variedad.
- c. Origen.
- d. Porcentaje en peso de semilla pura.
- e. Porcentaje en peso de materia inerte.
- f. Malezas secundarias y número de semillas presente, por orza o por libra.
- g. Porcentaje de germinación y fecha en que se efectuó" (10).

"Artículo 8o. No podrá venderse ninguna semilla agrícola si han transcurrido seis meses de haberse efectuado la última prueba de germinación; para permitir su venta, es requisito efectuar otra prueba de germinación llevada a cabo por el Departamento de Semillas" (10).

En lo que se refiere a la importación y exportación de semillas, las normas reglamentarias, también especifican que toda semilla debe ser analizada en el laboratorio, previo a cualquier movimiento, dictando las siguientes disposiciones:

"Artículo 9o. Toda semilla que se desee importar al país, debe acompañar la siguiente información:

- a. Certificado de origen.
- b. Certificado sanitario.
- c. Etiqueta adherida en la que se detalle:
 - 1. Nombre del vendedor.
 - 2. Nombre y dirección del consignatario
 - 3. Nombre de la clase y variedad.
 - 4. Porcentaje en peso de semilla pura.
 - 5. Porcentaje en peso de materia inerte que no debe exceder del 2%.
 - 6. Porcentaje en peso de semillas de malezas.
 - 7. Porcentaje y fecha de la última prueba de germinación" (10).

"Artículo 10o. Todo lote de semillas que se importe al país antes de poder ser retirado de la aduana, debe ser analizado en el laboratorio

del Departamento de Semillas. Los inspectores oficiales, previa solicitud del interesado, obtienen las muestras respectivas y notificarán a donde corresponda, lo antes posible, el resultado del análisis del laboratorio, indicando si se permite o no la entrada al país de la semilla. En caso de rechazarse, se deberá explicar el motivo" (10).

Por lo anteriormente expuesto se puede determinar la importancia que tienen los análisis de laboratorio, principalmente lo que se refiere a la germinación, factor importantísimo en el éxito de una explotación agrícola.

El análisis de la semilla proporciona información para cumplir las normas legales, determina la calidad de la misma y permite establecer la densidad de siembra necesaria para establecer cierta población de plántulas. Cuando la semilla se ha almacenado durante un tiempo largo, es conveniente volver a analizarla" (12).

La determinación de la calidad de las semillas en los laboratorios, sigue los siguientes pasos: (16)

II.3.1 MUESTREO

El primer paso para llevar a cabo un análisis de semillas es obtener una muestra uniforme que represente el lote que se está considerando (12).

La teoría del muestreo considera que un lote de semillas está formado por materiales homogéneos y que una muestra compuesta que se ha obtenido siguiendo los procedimientos establecidos, es representativa de dicho lote (13,16).

Para ello se toman porciones iguales de semilla en partes del lote uniformemente distribuidas; por ejemplo, una muestra de varios sacos en lotes de menos de cinco bultos o de cada quinto saco en lotes mayores. Las muestras así tomadas se mezclan con toda prolijidad y luego se dividen en porciones más pequeñas, para obtener la muestra de trabajo, que es la muestra sobre la que se efectuará el análisis. La cantidad de semilla requerida para la muestra de trabajo varía según las clases de semillas y está especificada en las Reglas Internacionales para el análisis de semillas (ISTA) (12).

El muestreo puede realizarse en semillas a granel, en semillas que están saliendo del beneficio, en semillas en costales, además de la que se encuentre en lotes o estibas (13,16).

II.3.2 DETERMINACION DE LA HUMEDAD

“Es muy importante conocer el porcentaje de humedad de las semillas inmediatamente después de que se han cosechado y antes de que se embarquen o almacenen. La humedad influye mucho en la conservación de la viabilidad de las semillas” (16).

Cuando se va a determinar el porcentaje de humedad de un lote de semillas, las muestras deben colectarse en un recipiente que cierre herméticamente. Se puede coleccionar en una bolsa doble de plástico, la cual deberá quedar casi llena y bien cerrada.

Para determinar la humedad se pueden utilizar aparatos electrónicos. La prueba con este tipo de aparatos está basada tanto en la conductividad, como en las propiedades dieléctricas de la semilla (16). Existe también el método del horno, método recomendado por las Reglas Internacionales para el ensayo de semillas y con el cual se determina con mayor exactitud la humedad (6).

II.3.3 ANALISIS DE PUREZA

“Se entiende por pureza al porcentaje en peso de semilla pura presente en la muestra” (12).

Por semilla pura se entiende a la especie, variedad o tipo, que define en forma principal a la semilla presente en el lote.

Después de haber pesado la muestra de trabajo, se divide visualmente en:

- a. La semilla pura de la clase que se está considerando.
- b. Semillas de otras plantas de cultivos.
- c. Semillas de malezas
- d. Materia inerte incluyendo estructuras similares a las semillas, semillas rotas o vanas, cascabillo, tierra, piedras y otras basuras. En algunos casos es posible comprobar la autenticidad de la semilla respecto a la variedad o especie por inspección visual. Sin embargo, con frecuencia la identificación no puede hacerse si no se cultivan las plantas. Al hacer el análisis de pureza se puede calcular el número de semillas puras por kilogramo. Este dato es necesario como guía para ajustar la densidad de siembra (12).

Algunas veces la semilla pura y las semillas de otros cultivos pueden dañarse físicamente durante el beneficio o ser atacadas por insectos o microorganismos a tal grado que se les tiene que considerar como material inerte (16).

II.3.4 ANALISIS DE GERMINACION

“Mediante el análisis de germinación, se obtiene información respecto al valor de la semilla que se va a sembrar en el campo, permite comparar la calidad de diferentes lotes de semillas” (16).

Por regla general no resulta satisfactorio efectuar los ensayos en las condiciones que prevalecen en el mismo campo de cultivo, debido a que los resultados no pueden ser duplicados con toda seguridad. Por ese motivo se han ideado métodos por medio de los cuales alguna o todas las condiciones externas (humedad, temperatura, luz), se controlan para proveer la más uniforme, rápida y completa germinación para la mayoría de las muestras de determinada clase de semilla. En los análisis del laboratorio, la germinación se define como la salida de adentro del embrión, de la semilla, y el desarrollo de todas aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla de que se trate, pongan de manifiesto su potencialidad para desarrollarse bajo condiciones favorables de terreno, y producir una planta normal.

El porcentaje de germinación sobre el cual se informa en el certificado de análisis indica la proporción de semillas que han producido plántulas clasificadas como normales, bajo las condiciones y dentro del término especificado por las Reglas Internacionales para el ensayo de semillas (10).

Para obtener una buena prueba, es necesario por lo menos utilizar 400 semillas tomadas al azar y dividir las en réplicas de 100 semillas. Si cualquiera de esas réplicas, difiere en más del 10% se debe repetir la prueba. De otro modo, el promedio de las cuatro réplicas es el porcentaje de germinación (11).

Todas las pruebas de germinación deben hacerse con semillas tomadas del lote separado como semilla pura, en caso contrario puede haber un aumento de la variación entre los resultados de las germinaciones de las distintas réplicas.

Las semillas deben espaciarse uniformemente en el sustratum y deben estar separadas lo suficiente para impedir en lo posible que las plántulas recién nacidas se pongan en contacto antes de ser contadas y retiradas.

El tiempo para el primer y último recuento, se da en las Reglas Internacionales para el ensayo de semillas, pero pueden hacerse recuentos intermedios a discreción del analista, después de que las plántulas hayan alcanzado una etapa de desarrollo suficiente como para que puedan ser evaluadas todas las estructuras esenciales.

Diversas técnicas se usan para las pruebas de germinación, entre las cuales, las más usadas son las pruebas de germinación en germinadores y la prueba de germinación en cajas de arena.

En los laboratorios de análisis de semillas, al utilizar el método del germinador, por lo general se colocan las semillas en bandejas de germinación (que no sean de lámina galvanizada pues contienen sales tóxicas de zinc), (12), ya sea entre dos capas de toallas de papel absorbentes o encima de ellas, colocando luego las bandejas en los germinadores donde se controla la luz, la temperatura y la humedad. Para impedir el desarrollo de microorganismos debe conservarse todo el material y todo el equipo, escrupulosamente limpio, de ser posible esterilizado y se debe regular con todo cuidado la provisión de agua. No se debe formar una capa de agua alrededor de las semillas ni el medio de germinación debe estar tan húmedo que aparezca agua al aplanarlo con el dedo.

Las toallas de papel (de 28 X 36 cms o de tamaño semejante) son humedecidas y las semillas se colocan espaciadas de modo que con la misma toalla puedan ser cubiertas, la toalla se va enrollando. El rollo no debe quedar apretado, siendo deseable que tenga unas 5 vueltas o capas. Se colocan horizontal o verticalmente en las bandejas (11).

En el caso del uso de cajas, no necesariamente, tienen que tener como sustratos de germinación la arena o la tierra, ya que se puede utilizar también papel secante, algodón absorbente, toallas de papel y papel filtro, materiales que dentro de cajas plásticas, de cartón parafinado, de Petri o de madera pueden servir como sustratos de germinación.

Al germinar, tanto en germinadores como en cajas de arena, por lo general una plántula normal, debe tener una raíz y un tallo bien desarrollados; aunque el criterio de plántula normal varía en las diversas clases de semillas. Además pueden presentarse plántulas anormales, semillas duras, semillas latentes y semillas muertas o podridas. Las plántulas anormales pueden ser ocasionadas por una declinación en la vitalidad debido a la edad o a malas condiciones de almacenamiento, por daños mecánicos o por insectos o enfermedades, por sobredosis de fungicidas, por daños de heladas, por deficiencias de minerales (manganeso y boro) en el caso de arveja y frijol (11), o bien, por materiales tóxicos que a veces se encuentran presentes en bandejas metálicas de germinación en los substratos o en el agua de cañería (8).

Para la prueba de germinación en un laboratorio, las condiciones del medio, no solo deben ser lo suficientemente específicas para iniciar el crecimiento de las semillas sino que deben ser también favorables para el desarrollo de las plántulas resultantes hasta una etapa en que pueda hacerse la interpretación por tipos normales y anormales. En las reglas para pruebas de semillas se han establecido métodos precisos para la germinación en el laboratorio de las semillas más comunes y a medida que aumentan los conocimientos sobre la transformación de las semillas durante la germinación, indudablemente se harán cambios en esos métodos (8).

Los métodos exactos para la preparación de los substratos y para la colocación de las semillas en los mismos, varían, dependiendo del laboratorio y de las clases de equipo, tamaño de las bandejas y otros factores variables (8).

En el presente trabajo se examinarán y describirán los métodos usados en el país, es decir en el laboratorio central de Semillas del Ministerio de Agricultura, por ser estos métodos la base de la presente investigación, principalmente a lo que se refiere a los germinadores y a las cajas de arena, no así el método de Tetrazolium, método que no es usado en las pruebas de semillas que se realizan en el país*

* Los procedimientos para realizar pruebas de germinación en germinadores y cajas de arena, se describen en el capítulo referente a Materiales y Métodos, III.3.1. Manejo de los experimentos.

II.3.5 INTERPRETACION DE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE ARROZ, MAIZ, FRIJOL Y PINO ANALIZADAS EN CAJAS DE ARENA Y EN GERMINADORES: (11)

MAIZ (*Zea mays* L.)

Características aceptadas para Plántulas Normales:

RAIZ:

- a) La principal fuente, generalmente con presencia de raíces secundarias.
- b) La principal ausente, pero con dos o más raíces secundarias vigorosas.

PLUMULA:

- a) Hoja foliar verde y bien desarrollada, generalmente ya emergida del coleóptilo al término del período de ensayo (7 días).
- b) Plúmulas retorcidas o encrespadas sujetas o confinadas por la excesiva resistencia de la cubierta de la semilla.

INFECCIONES:

- a) Se acepta una ligera infección causada por hongos, siempre que las estructuras principales de la plántula estén bien desarrolladas.

Características aceptadas para Plántulas Anormales

RAIZ:

- a) No hay raíz principal ni raíces secundarias.
- b) Raíz principal ausente pero con raíces secundarias cortas y débiles.

PLUMULA:

- a) Ausencia de hoja foliar, se ve solo el coleóptilo sin color.
- b) Hoja foliar acortada, extendiéndose hacia arriba menos

de la mitad dentro del coleóptilo.

- c) Plúmula débil y pálida, generalmente asociada con semillas atacadas por hongos.
- d) Plúmula corta y engrosada, a menudo el resultado excesivo de tratamiento de la semilla con productos químicos.
- e) Hoja foliar enteramente blanca. La plántula no llegará a ser una planta normal debido a la falta de clorofila.
- f) Hojas dobladas y partidas longitudinalmente con o sin partidura del coleóptilo.
- g) Plúmulas podridas, siempre que la pudrición no sea el resultado de condiciones de ensayo inadecuados. Las plúmulas generalmente tienen aspecto débil y muestran pudrición cerca del punto de unión al grano.

INFECCIONES:

- a) Infección producida por honyos asociados con raíz y la plúmula débil.

ARROZ (Oryza sativa):

Características aceptadas para Plántulas Normales:

RAIZ:

La principal larga, generalmente con numerosas raicillas secundarias; algunas raíces permanentes desarrollándose desde el primer nudo, deben estar presentes si la plántula no es sacada hasta el final del ensayo.

PLUMULA:

Hoja foliar verde y bien desarrollada, generalmente ya emergida del coleóptilo al tiempo de ser evaluada.

INFECCIONES:

Se acepta ligera infección causada por hongos, siempre que las estructuras principales de la planta estén bien desarrolladas.

Características aceptadas para Plántulas Anormales:

RAIZ:

- a) Ausente
- b) Raíz principal débil con escaso o nulo desarrollo de raíces secundarias.

PLUMULA:

- a) Hoja foliar ausente, se ve solo el coleóptilo sin color.
- b) Plúmula débil y a veces acuosa, generalmente asociada con pudrición del grano.
- c) Hoja foliar corta, extendiéndose hacia arriba menos de la mitad, dentro del coleóptilo.
- d) Hoja foliar doblada o partida longitudinalmente, con o sin partidura del coleóptilo.
- e) Plúmula podrida, siempre que la pudrición no sea el resultado de condiciones de ensayo inadecuadas. La plúmula es generalmente débil y muestra pudrición en el punto de unión con el grano.

INFECCIONES

- a) Infección causada por hongos, asociada con raíz y plúmula débil.

FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Características aceptadas para Plántulas Normales:

RAIZ:

- a) La principal fuente o un conjunto de raíces secundarias robustas y suficientes para arraigar la plántula cuando se hace crecer en suelo o arena.

HIPOCÓTILO:

- a) Largo o corto pero robusto, sin grietas o lesiones.

- b) Quebraduras cicatrizadas a veces llamados codos siempre que la plántula sea vigorosa.
- c) Raíz e hipocotilo encrespado y retorcido en forma de espiral oprimido con una cubierta resistente de la semilla causando una emergencia retardada. El hipocotilo debe presentarse normal en todos los demás aspectos.

COTILEDONES:

- a) Ausencia de uno o de ambos, siempre que el epicotilo esté intacto.

EPICOTILO:

- a) Una y de preferencia dos hojas primarias con la yema terminal intacta.
- b) Parcial o total pudrición del epicotilo, siempre que el hipocotilo y la raíz estén bien desarrolladas. En tales plántulas el epicotilo generalmente no se pudre cuando se le hace crecer a una atmósfera más seca. Y a la luz del sol, donde los cotiledones pueden abrir en forma natural. Sin embargo si hay una gran cantidad de tales plántulas, debe efectuarse un nuevo ensayo y evaluar las plántulas cuidadosamente.

INFECCIONES:

- a) Se acepta una ligera infección causada por hongos, siempre que las estructuras principales de la planta estén bien desarrolladas.

Características aceptadas para Plántulas Anormales:

RAIZ:

- a) No hay raíz principal ni un conjunto de raíces secundarias bien desarrolladas.
- b) Raíz con partidura que se extiende hasta el hipocotilo.

HIPOCOTILO:

- a) Con grietas profundas abiertas.

- b) Mal formado, puede tener aspecto encrespado, acortado y engrosado.

COTILEDONES:

- a) Presentes pero faltándoles el epicotilo.

EPICOTILO:

- a) No hay hojas primarias ni yema terminal.
- b) No hay hojas primarias pero sí una yema terminal.
- c) No hay hojas primarias pero sí yema terminal y yemas auxiliares en una o en ambas axilas de los cotiledones.
- d) Hojas primarias muy pequeñas y pálidas.

PINO (Pinus sp.) (3, 4, 17)

Características aceptadas para Plántulas Normales:

RAIZ:

- a) Bien desarrolladas, fuerte y sin malformaciones.

HIPOCOTILO:

- a) Largo o corto, pero sin lesiones ni malformaciones, bien desarrollado, fuerte.

COTILEDONES:

- a) Normalmente desarrollados, y bien unidos al hipocotilo, con la yema terminal intacta.

INFECCIONES:

- a) Se acepta una ligera infección causada por hongos, siempre y cuando las estructuras de la plántula estén bien desarrolladas.

Características aceptadas para Plántulas Anormales: (3,4,17)

Todas las plántulas que parezcan incapaces de producir plan-

tas normales en un ensayo en tierra. Esta categoría comprende:

- a) Plántulas sanas en las que al final del ensayo de germinación se observe un escaso desarrollo debido a falta de vigor aunque sean capaces de producir radículas o raíces adventicias normales. No se incluyen en esta categoría, las plántulas de desarrollo lento por ser la semilla dura o estar en estado de vida latente.
- b) Plántula en que los cotiledones estén bien partidos o una parte de la radícula esté rota, o cuando el hipocotilo o radícula observen rajaduras, roturas o lesiones que afecten a los tejidos conductores.
- c) Plántulas cuya radícula presente una marcada estrangulación que afecte a los tejidos conductores.
- d) Plántulas con apariencia débil o enfermiza.
- e) Plántulas que representen graves anomalías (por ejemplo los cotiledones o el tallo hipocotíleo enrollados sobre sí mismos) y carentes prácticamente de vitalidad.

II.3.6 METODO BIOQUIMICO

CLORURO DE 2,3,5 TRIFENIL TETRAZOLIUN (método basado en la actividad enzimática de las semillas.

Las enzimas son biocatalizadoras y desempeñan importante papel en el complejo proceso que es la vida. Debido a que las enzimas son partes vitales en el metabolismo de las plantas, y dado que la actividad de muchas de ellas se puede medir o demostrar con técnicas apropiadas, los investigadores han procurado desde hace mucho, correlacionar su actividad con la viabilidad de las semillas. De acuerdo a lo anterior, muchos de los métodos más prometedores y exitosos para estimar la viabilidad de la semilla son, en esencia, pruebas para enzimas o grupos de enzimas.

Los ensayos de viabilidad apoyados en actividad enzimática deben cumplir con diversos requisitos para su buena aplicación práctica.:

1. El método debe permitir el examen y evaluación de las respuestas individuales.

2. Las respuestas deben ser fácilmente identificables y no deben de requerir de gran técnica bioquímica ni de grandes conocimientos por parte del analista.
3. La actividad de la enzima, o de los sistemas de enzimas deben estar estrechamente asociados o correlacionados con la vida de la semilla.

El más importante de los métodos rápidos para determinar la viabilidad de las semillas es la prueba con Tetrazolium, basada en el cambio de color del embrión mediante la actividad enzimática. No hay duda de que esta prueba ha suscitado el interés tanto entre la gente dedicada a las semillas como entre los analistas de semillas y ha hecho que la atención se dirija hacia la necesidad de pruebas rápidas de viabilidad en proporción mucho mayor que todas las otras técnicas (16).

La sal de Tetrazolium es un indicador de oxidación-reducción y se ha establecido que el desarrollo del color rojo no difusivo, en el tejido, es el resultado de la reducción del reactivo por la acción enzimática. La prueba del Tetrazolium es en sí, una prueba para la actividad particular de sistemas enzimáticos. Afortunadamente la pérdida de actividad de estos sistemas tiende a ser paralela con la pérdida de viabilidad en la semilla (16).

Las enzimas dehidrogenasas están ligadas con la actividad respiratoria de los sistemas biológicos. Durante el proceso respiratorio se producen intermediarios que sirven como sustrato a las enzimas. Los iones de hidrógeno se transfieren al Tetrazolium y éste actúa como receptor de hidrógeno. El tetrazol se reduce entonces a una forma insoluble y de color rojo llamada Formazan. Puesto que la reacción ocurre dentro de las células, y el pigmento no es difusivo, existe una delimitación perfecta, nítida entre el tejido que respira (viable) y el que no respira (no viable). El primero adquiere un color característico (rojo) mientras que el segundo mantiene su color natural.

La velocidad de la reacción se ve afectada por varios factores: pH, temperatura, presión atmosférica y concentración (11, 16).

Para aplicar la prueba de Tetrazolium, es necesario el conocimiento general, tanto de la semilla como del brote. Tal co-

nocimiento es esencial en la preparación adecuada de las semillas para la prueba y también en la interpretación de los resultados. La interpretación se basa fundamentalmente en la distribución de tejidos tanto vivos como muertos entre los varios órganos del embrión por lo que si no se conoce la importancia y la función de cada órgano, las reacciones de coloración carecen de significado (10, 11, 16).

El compuesto de Tetrazolium que se utiliza es el cloruro de 2,3,5 Trifenil Tetrazolium. Es un polvo blanco o amarillo claro, soluble en agua. Las soluciones deben prepararse con agua destilada. No se debe preparar cada vez, más solución de la necesaria para dos semanas. Aunque la solución es muy estable, frecuentemente se contamina y se degrada en los períodos largos de almacenamiento. Cuando no se use, la solución debe guardarse en lugar frío y oscuro; la exposición a la luz intensa origina la reducción del reactivo y el desarrollo del color rojo en la solución.

Generalmente se emplean concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 por ciento sobre la base peso a volumen. Las concentraciones específicas usadas en los diferentes tipos de semillas utilizados en el presente trabajo, se dan en el capítulo Materiales y Métodos.

Las semillas que se utilizan para la prueba normal de germinación se toman del componente puro de semilla, obtenido del análisis de pureza, y dado que el objetivo principal de la prueba con Tetrazolium es suministrar una estimación del porcentaje de germinación, deben de seguirse procedimientos similares. Por consiguiente, las semillas que se utilicen para la prueba deben tomarse, también, de la fracción de semilla pura.

Es conveniente que al escoger la semilla pura, se incluya una cantidad mayor que la necesaria, debido a que frecuentemente algunas de las semillas seleccionadas para la prueba se pierdan o se dañan en la preparación. Es muy importante que el primer paso sea la selección del número apropiado de semillas para la prueba; una vez que las semillas se han seleccionado, se encuentran listas para el acondicionamiento o preparación para la prueba de Tetrazolium.

Es necesario acondicionar las semillas antes de prepararlas para la prueba, ya que existen algunas que deben bisectarse co-

mo maíz y arroz y que también necesitan un reblandecimiento previo sumergiéndolas en agua o colocándolas en un medio húmedo; este acondicionamiento facilita el corte y da un color más limpio y claro. Debido a que el tiempo es esencial, el período de humedecimiento debe ser tan corto como sea posible pero con reblandecimiento suficiente para cortar o para descortezar. Se ha sugerido que el acondicionamiento prolongado, como tal, mejora la calidad de la prueba, pero si bien la interpretación se hace más fácil, puede ser que el sacrificio de tiempo no se compense con esa mayor facilidad en la interpretación.

El acondicionamiento o reblandecimiento se efectúa más rápidamente a más alta temperatura. En general la mayoría de las semillas se acondicionan satisfactoriamente alrededor de 30°C. (16).

Cada clase de semilla por probar, tiene su método específico, por lo que en el capítulo referente a Materiales y Métodos se describen detalladamente los pasos que se siguieron en el ensayo con semillas de maíz, frijol, arroz y pino.

Las semillas que requieren acondicionamiento antes de colocarse no deben dejarse secar previamente a su colocación en el Tetrazolium. Siempre deben permanecer cubiertas con solución o con agua limpia.

Después de que la coloración haya progresado hasta la intensidad deseada (rojo brillante), se debe extraer la solución de Tetrazolium y lavar las semillas varias veces en agua, luego deben dejarse las semillas en agua ya que si se dejan secar las superficies coloreadas, desarrollan colores anormales.

Además, las semillas deben conservarse en la oscuridad durante el período de coloración ya que el Tetrazolium se reduce lentamente a un pigmento rojo insoluble bajo la acción de la luz.

Las características físicas de las semillas influyen en el tiempo de coloración de las mismas, ya que a temperatura dada y concentración constante en el Tetrazolium, cada tipo de semilla adquiere el color a una velocidad que le es característica.

Las pruebas no es necesario interpretarlas en seguida de la

coloración y del lavado de la semilla, sino que pueden colocarse en el refrigerador o en cualquier otro lugar frío (en condiciones de oscuridad) y posponer la interpretación durante algunas horas o bien durante toda la noche (9.16).

II.3.7 INTERPRETACION PRUEBA CON TETRAZOLIUM

En general para determinar el porcentaje de semillas viables, se toma en cuenta:

- Las semillas que muestran una coloración intensa y que cubran totalmente el embrión.
- Las semillas con una coloración pálida y que cubran totalmente el embrión.
- Las semillas que muestran una coloración fuerte o pálida en cuando menos dos tercios de la superficie del embrión.
- Las semillas con una coloración fuerte o pálida, pero con manchas claras en las principales estructuras del embrión.

SEMILLAS MUERTAS:

- Las que muestran un tercio de la superficie del embrión sin colorear.
- Las que adquieren un color rojo anaranjado pálido.
- Las incoloras a excepción de las que hayan sido cortadas a través del embrión o en las que se haya perdido éste al hacer el corte.

Para calcular el porcentaje de semilla viable se cuenta el número de semillas muertas y se resta de 100.

III. MATERIALES Y METODOS

III.1 UBICACION DEL ENSAYO

La evaluación y comparación de tres métodos para determinar la viabilidad en semillas, fue realizada mediante la conducción de tres ensayos: germinador, cajas de arena y Tetrazolium (prueba bioquímica). Dichos ensayos se llevaron a cabo en el laboratorio del Departamento de Control y Certificación de Semillas del Ministerio de

Agricultura, y en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

III.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

III.2.1 TRABAJO EN LABORATORIO

En el laboratorio se realizaron los ensayos correspondientes a Germinadores y Tetrazolium, utilizándose para tal efecto, además de los germinadores, bandejas de aluminio, toallas de papel absorbentes, formaldehído al 40%, agua desmineralizada*, semilla certificada de maíz, frijol, arroz y de pino (toda la semilla de cosecha 1976, siendo la semilla de maíz, arroz y frijol. tratada con Arazan. 3 onz/qg y Malathion 120 cc/3 gal/qg, y la semilla de pino únicamente con Gamexán). También se utilizó el Tetrazolium (2,3,5 Trifenil Tetrazolium), cajas de Petri, beakers, lupa, estereoscopio, bisturí, pinzas y un germinador completamente cerrado y oscuro, utilizado como medio oscuro.

III.2.2 TRABAJO EN INVERNADERO

En el invernadero se llevó a cabo la determinación de viabilidad utilizando el método de cajas de arena; el material usado en este ensayo fue el siguiente: cajas de madera (10 X 30 X 40 cms), arena de río, agallol, paletas de plástico para identificación y cedazo para protección contra roedores.

III.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Para determinar si existía diferencia significativa entre medias de los tratamientos estudiados y así rechazar o aceptar la hipótesis nula planteada, o sea que los tres métodos ensayados son igualmente confiables y eficientes para averiguar la viabilidad en semillas de maíz, frijol, arroz y pino, se realizaron comparaciones entre medias de tratamientos, utilizándose la prueba "t" de Student.

Cada uno de los tratamientos fue ensayado de la siguiente forma:

TRATAMIENTOS:

- a) Germinador: cuatro repeticiones de cada especie, cada repetición con cuatro réplicas de 100 semillas cada una, haciendo un

* vendida en el comercio con el nombre de agua pura Salvavidas.

total de 1,600 semillas por especie.

- b) Cajas de arena: igual que el ensayo anterior.
- c) Tetrazolium: cuatro repeticiones de cada especie, cada repetición de 100 semillas, haciendo un total de 400 semillas por especie.

III.3.1 MANEJO DE LOS EXPERIMENTOS

GERMINADOR

1. PREPARACION:

Lavado y desinfección de equipo (germinadores, bandejas, mesa de trabajo), 24 horas antes de poner las muestras al proceso de germinación. Para esta actividad se utilizó Ajax* y agua, así como formaldehído al 40% en solución al 2%.

2. ANALISIS DE GERMINACION:

Se realizaron por separado los ensayos de cada una de las especies analizadas: maíz, frijol, arroz y pino, utilizando semilla pura.

Se colocaron en cada bandeja de aluminio cuatro toallas de papel absorbente (dos sobre dos), humedecidas con agua desmineralizada, poniéndose luego 200 semillas de la especie analizada en cada bandeja, más o menos con una separación de un centímetro entre semillas, se utilizaron de esta forma ocho bandejas.

- 3. La temperatura en los germinadores durante el proceso fue de 25°C, y con una humedad relativa de 95%.
- 4. Para todas las especies se realizó una sola lectura, la cual dependió del número de días necesario para que se pudieran diferenciar todas las partes importantes de las plántulas de cada especie, a saber:

* Producto comercial a base de cloro.

	Fecha Prueba	Fecha Lectura	Días en proceso de análisis
A. Maíz	18-1-77	25-1-77	7 días
b. Frijol	12-1-77	17-1-77	5 días
c. Arroz	3-2-77	17-2-77	14 días
d. Pino	7-3-77	21-3-77	14 días

5. Los datos tomados en cada uno de los análisis fueron los siguientes:

- a) Porcentaje de plántulas normales*
- b) Porcentaje de plántulas anormales*
- c) Porcentaje de semillas muertas*
- d) Presencia de enfermedades**
- e) Conformación general de las plántulas (observación cualitativa)**

CAJAS DE ARENA:

1. Determinación del pH de la arena: 6.7.

2. PREPARACION:

Lavado y desinfección: se realizó lavado de la arena con agua, luego se desinfectó con agallol a razón de 25 cc/3 gal. de agua; este procedimiento se llevó a cabo una semana antes de la siembra.

3. SIEMBRA:

Se sembró por separado la semilla de cada una de las especies, poniendo 100 semillas en cada una de las cajas para maíz y frijol, utilizando 16 cajas. En el caso del arroz y del pino se sembraron 200 semillas por cajas o sea ocho cajas.

La profundidad usada para maíz y frijol fue más o menos de 2 cms., en el caso del arroz, la siembra fue casi superficial, no así con el pino, que se sembró a 3 cms. de profundidad. Entre cada plántula se dejó más o menos un centímetro.

* Ver apéndice

** Ver Consideraciones Generales (IV.5)

4. Se regaron cada 48 horas, a modo de mantener la humedad adecuada.

5. LECTURAS:

Para todas las especies se realizó un solo conteo, el cual dependió del número de días necesarios para que se pudieran diferenciar todas las partes importantes de las plántulas de cada especie; los conteos se realizaron de la forma siguiente:

	Fecha Siembra	Fecha Conteo	Días en proceso
a. Maíz	7-12-76	17-12-76	10 días
b. Frijol	17-12-76	27-12-76	10 días
c. Arroz	18- 1-77	1- 2-77	14 días
d. Pino			21 días

6. Los datos tomados en cuenta en cada uno de los análisis fueron los siguientes:

- Porcentaje de plántulas normales*
- Porcentaje de plántulas anormales*
- Porcentaje de semillas muertas*
- Presencia de enfermedades**
- Conformación general de las plántulas (datos culitativos)**

TETRAZILIUM:

Para cada una de las especies analizadas, el procedimiento fue variado, por lo que se considera conveniente detallar cada uno de ellos.

A MAIZ (Zea mays)

- Reblandamiento de la semilla:
Se dejó la semilla en papel húmedo durante 15 horas dentro de un germinador a 30°C.
- Después de haber efectuado este acondicionamiento se dejó la semilla sumergida en agua durante 6 horas.

** Ver Consideraciones Generales (IV.5)

* Ver apéndice

3. Se realizó en corte longitudinal, por la parte media, a través del embrión, a todas las semillas.
4. Se descartó una mitad; la otra fue colocada en solución de Tetrazolium al 0.5% (5 gramos de Tetrazolium en 1000 ml/agua).
5. En la solución se dejaron durante una hora a 40°C y en un medio oscuro (germinador cerrado).
6. Cuando las semillas se colorearon, hasta un rojo intenso se extrajo la solución de Tetrazolium, y las semillas se lavaron con agua fría varias veces.
7. Interpretación: tomando en cuenta la coloración que las semillas hayan tomado (intensidad), así como las partes del embrión coloreadas; al estar llevando a cabo esta actividad, las semillas deben estar completamente sumergidas en agua para evitar que la tensión se degrade.

B. FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)

1. Acondicionamiento de la semilla durante 16 horas en papel húmedo.
2. Corte de la cubierta seminal en medio de los cotiledones para que la absorción de la solución de Tetrazolium fuera más fácil.
3. Las semillas así preparadas se colocaron directamente en solución al 1% de Tetrazolium (10 gramos de Tetrazolium por 1000 ml. de agua), durante tres horas a 40°C, en un medio oscuro (germinador).
4. Se lavaron las semillas varias veces con agua fría.
5. Se removió cáscara y se interpretó haciendo uso del estereoscopio, teniendo el cuidado de mantener las semillas sumergidas en agua.

C. ARROZ (*Oryza sativa*)

1. Acondicionamiento de la semilla en un medio húmedo (toallas absorbentes) durante 16 horas.

2. Todas las semillas fueron seccionadas longitudinalmente, por la mitad a través del embrión.
3. Se descartó una mitad, la otra se puso en solución al 0.5% de Tetrazolium (5 gs. de Tetrazolium, 1000 ml. de agua) a 40°C, durante dos horas, en un medio oscuro (germinador).
4. Se extrajo la solución y se lavó la semilla varias veces con agua fría.
5. Se dejó la semilla en agua.
6. Interpretación.

D. PINO (Pinus sp)

1. Acondicionamiento de la semilla en toallas húmedas durante 12 horas.
2. Bisección de las semillas, fuera del centro en sentido longitudinal, guardándose la mitad más grande.
3. Se colocaron las semillas bisectadas en solución de Tetrazolium al 1% (10 gs. de Tetrazolium en 1000 ml de agua) por 18 horas a 20°C.
5. La semilla se extrajo de la solución y se lavó varias veces con agua fría.
6. Interpretación.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados experimentados del presente estudio se encuentran consignados en los cuadros Nos. 1 al 12 del apéndice para los diferentes análisis de germinación y en los cuadros Nos. 13 al 24 de esta discusión, los correspondientes a diferencias entre medias de acuerdo a la prueba "t" de Student.

IV.1 MAIZ:

En los cuadros Nos. 1, 2 y 3 se observa que los porcentajes de germinación obtenidos con los tres diferentes métodos empleados, fueron similares, efectuándose todas las comparaciones posibles entre los tres tratamientos para determinar si existía diferencia signifi-

cativa entre las respectivas medidas.

Las comparaciones efectuadas fueron las siguientes:

1. Germinador contra Cajas de arena (N.S.)
2. Tetrazolium contra Germinador (N.S.)
3. Cajas de arena contra Tetrazolium (N.S.)

Los resultados obtenidos en cada una de las comparaciones llevadas a cabo, indican que no existe diferencia significativa entre los tres tratamientos, al nivel del 5% de probabilidad, por lo que se infiere que para efectuar análisis de germinación de semillas de maíz, pueden ser utilizados indistintamente cualquiera de los métodos estudiados (cuadros 13, 14 y 15).

IV.2 FRIJOL:

Las comparaciones efectuadas entre los tres diferentes métodos para determinar la germinación en semilla de frijol nos indican que entre Germinador y Cajas de arena, no existen diferencias significativas entre las medias de los dos tratamientos, al 5% de probabilidad, no habiendo, por lo tanto inconveniente en utilizar cualquiera de los dos métodos comparados (cuadro No. 16).

En lo que se refiere a Germinador y Tetrazolium se determinó que el método del germinador resultó ser significativamente mejor que el Tetrazolium (cuadro No. 18).

Entre Cajas de arena y Tetrazolium, también se obtuvo diferencia significativa, resultando ser el método de cajas de arena más eficiente que el empleo del Tetrazolium (Cuadro 16).

IV.3 ARROZ:

De acuerdo a los resultados obtenidos al realizar las tres comparaciones entre los tres métodos utilizados para determinar el porcentaje de germinación de semilla de arroz, se observa que entre los métodos de germinador y cajas de arena no existe diferencia significativa entre las medias de los dos tratamientos, al 5% de probabilidad, infiriéndose por tal motivo que cualquiera de los dos puede ser utilizado con eficiencia y confiabilidad (cuadro No. 19).

En las comparaciones de Germinador contra Tetrazolium y Cajas de arena contra Tetrazolium se observó que sí existía diferencia signi-

ficativa entre las medias de los tratamientos comparados, resultan-
do ser los métodos del Germinador y las Cajas de arena más efi-
cientes que el método del Tetrazolium (cuadros Nos. 20 y 21).

IV.4 PINO:

Al efectuar las comparaciones posibles entre los tres métodos se es-
tableció que no existe ninguna diferencia significativa entre las me-
dias de los tratamientos, al nivel del 5% de probabilidad, por lo que
se deduce que el análisis de semilla de pino puede ser utilizado
con eficiencia y confiabilidad cualquiera de los tres métodos en es-
tudio (cuadros 22, 23 y 24).

IV.5 CONSIDERACIONES GENERALES

En los análisis de las diferentes especies de semillas puestas a ger-
minar en cajas de arena y germinadores, no se observó ninguna di-
ferencia desde el punto de vista fitosanitario, debido a que no hubo
ningún problema con plagas ni enfermedades, si bien es cierto que
los materiales para efectuar los ensayos fueron desinfectados con
formaldehído al 40% y agallol, así como también la semilla utili-
zada estaba tratada con fungicida (captan).

En los ensayos efectuados en cajas de arena, las plántulas de todas
las especies analizadas, presentaron un mayor desarrollo vegetativo,
debido a su mayor exposición al sol, aunque su período de germi-
nación fue un poco mayor que las analizadas en germinador, debi-
do a que en este método están bajo condiciones controladas.

Para la interpretación de las plántulas de todas las especies anali-
zadas, se tomó en cuenta que todas sus estructuras principales y
más importantes, estuvieran perfectamente desarrolladas y en per-
fecto estado.

V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En virtud de que los resultados obtenidos para cada especie estudiada
fueron diferentes, las conclusiones y recomendaciones se darán para ca-
da una de ellas.

V.1 MAIZ

- a) La comparación de los tres métodos, germinador, cajas de are-
na y Tetrazolium, en la determinación de la viabilidad de se-

milla de maíz, no presenta ninguna diferencia significativa entre sus respectivas medias por lo que pueden ser utilizados con eficiencia y confiabilidad cualquiera de los tres métodos.

- b) Se recomienda el uso del método de cajas de arena, por su costo y por ser tan efectivo como los otros.
- c) El empleo de cualquiera de los tres métodos ensayados, va a depender exclusivamente de los recursos económicos y humanos con que cuente la persona o institución que desee utilizarlos, ya que los tres métodos son efectivos.
- d) Si se desean resultados rápidos y se cuenta con los medios necesarios, se puede utilizar el método del Tetrazolium.

V.2 FRIJOL

- a) El uso de germinadores y cajas de arena, resultaron ser más efectivos que el empleo del Tetrazolium, aunque este método puede ser utilizado con más de 80% de eficiencia en el análisis de viabilidad de semilla de frijol, siempre y cuando se cuente con los recursos necesarios (humanos y económicos).
- b) Se puede emplear con éxito para el análisis de germinación de semillas de frijol, los germinadores y las cajas de arena, ya que entre estos dos métodos no hubo diferencia significativa, recomendándose el uso de cajas de arena, tanto por su costo como por la facilidad de su manejo.
- c) Si se desea rapidez en obtener resultados de un lote determinado de semilla, se puede emplear el Tetrazolium con confianza, siempre que el analista tenga un conocimiento exacto de la semilla de frijol para que sea efectivo.

V.3 ARROZ

- a) Debido a que no hubo diferencias al comparar el uso de los germinadores con las cajas de arena, cualquiera de los dos métodos son eficientes para determinar el porcentaje de germinación de semilla de arroz, en el caso del uso del Tetrazolium sí se presentó diferencia al compararse con los métodos anteriores, aunque puede emplearse con una efectividad mayor del 80%, por lo que su uso va a depender de los recursos (humanos y económicos) con que se cuente.

- b) Por su bajo costo y efectividad se recomienda el uso de cajas de arena.
- c) El uso de la prueba con Tetrazolium puede recomendarse con toda confiabilidad, aunque su eficiencia sea menor que las pruebas realizadas en germinadores y cajas de arena.

V.4 PINO

- a) En los análisis de semilla de pino llevados a cabo con los tres métodos estudiados, no se encontró ninguna diferencia significativa entre las medias de los mismos por lo que para determinar la viabilidad de dicha semilla, se puede emplear cualquiera de los tres métodos.
- b) Por comodidad, por su bajo costo y por su confiabilidad, se recomienda para el análisis de germinación de semilla de pino, el uso de cajas de arena.

V.5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

- a) Se recomienda para los análisis de germinación de las cuatro especies estudiadas, el uso de las cajas de arena, debido a que como se observó, con efectivas, confiables y de bajo costo, aunque tienen la limitante de las variaciones climáticas (cambios de temperatura y lluvia) si se realizan al aire libre, por lo que se recomienda al mismo tiempo que se emplee bajo condiciones de invernadero (de vidrio, o rústico construido de plástico, para evitar que el período de germinación se alargue).
- b) El empleo del método del Tetrazolium para determinar la viabilidad de las semillas, necesita de la práctica y la experiencia, para evitar resultados apresurados que lleven a peligrosos errores.
- c) Algunas técnicas y métodos de la prueba del Tetrazolium son extremadamente tediosas y requieren tanto paciencia como experiencia.
- d) Aun cuando los resultados de los ensayos con Tetrazolium pueden obtenerse dentro de períodos relativamente cortos, la prueba requiere generalmente un total de horas hombre de trabajo, mayor que la prueba de germinación realizada en germinadores y cajas de arena. En el caso de Guatemala, esta situa-

ción no influirá desde el punto de vista económico, debido a que a los analistas se les paga por mes y no por hora.

- e) El uso de la prueba con Tetrazolium, puede recomendarse con toda confiabilidad, aunque su eficiencia sea menor que las pruebas realizadas en germinadores y cajas de arena.
- f) Al realizar ensayos con Tetrazolium, no se pueden detectar microorganismos dañinos para los brotes, debido a que esta prueba no involucra la germinación.

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE " t "
 ESPECIE MAIZ
 GERMINADOR VRS. CAJAS DE ARENA

	% Germinación Germinador	% Germinación Cajas de Arena	X	X	X ²
A	81	82	-1	-2.75	7.56
B	88	80	8	6.25	39.06
C	83	82	1	-0.75	0.56
D	89	80	9	7.25	52.56
E	86	84	2	0.25	0.06
F	85	80	5	3.25	10.56
G	85	83	2	0.25	0.06
H	85	87	-2	3.75	14.06
I	86	82	4	2.25	5.06
J	84	87	-3	-4.75	22.56
K	80	84	-4	-5.75	33.06
L	81	80	1	-0.75	0.56
M	83	82	1	-0.75	0.56
N	83	80	3	1.25	1.56
O	87	82	5	3.25	10.56
P	84	87	-3	-4.75	22.56
		TOTALES	28	0	220.96

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 1.75$$

$$\Delta X = \sqrt{\frac{\sum X^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{220.96}{15}} = 3.838$$

$$\Delta \bar{X} = \frac{\Delta X}{\sqrt{n}} = \frac{3.838}{4} = 0.959$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{\Delta \bar{X}} = \frac{1.75 - 0}{0.959} = 1.82 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE MAIZ
 GERMINADOR VRS. TETRAZOLIUM

	% Germinación Germinador	% Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	81	84	-3	-3.62	13.14
B	88	88	0	-0.62	0.39
C	83	84	-1	-1.62	2.64
D	89	80	9	8.37	70.14
E	86	80	6	5.37	28.89
F	85	84	1	0.37	0.14
G	85	80	5	4.37	19.14
H	85	88	-3	-3.62	13.14
I	86	80	6	5.37	28.89
J	84	80	4	3.37	11.39
K	80	88	-8	-8.62	74.39
L	81	88	-7	-7.62	58.14
M	83	80	3	2.37	5.64
N	83	88	-5	-5.62	31.64
O	87	88	-1	-1.62	2.64
P	84	80	4	3.37	11.39
TOTALES			10	0	371.74

MEDIA (\bar{X}) = 0.625

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{371.74}{15}} = \sqrt{24.78} = 4.97$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{4.97}{4} = 1.244$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{0.625 - 0}{1.244} = 0.502 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE " t "

ESPECIE MAIZ

CAJAS DE ARENA VRS. TETRAZOLIUM

	% Germinación Cajas de Arena	% Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	82	84	-2	-0.875	0.765
B	80	88	-8	-6.875	47.265
C	82	84	-2	-0.875	0.765
D	80	80	0	1.125	1.265
E	84	80	4	5.125	26.265
F	80	84	-4	-2.875	8.265
G	83	80	3	4.125	17.015
H	87	88	-1	0.125	0.015
I	82	80	2	3.125	9.765
J	87	80	7	8.125	66.015
K	84	88	-4	-2.875	8.265
L	80	88	-8	-6.875	47.265
M	82	80	2	3.125	9.765
N	80	88	-8	-6.875	47.265
O	82	88	-6	-4.875	23.765
P	87	80	-7	8.125	66.015
		TOTALES	-18	0	379.74

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 1.125$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{379.74}{15}} = \sqrt{25.316} = 5.031$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{5.031}{4} = 1.257$$

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s_{\bar{x}}} = \frac{1.125 - 0}{1.257} = 0.894 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE FRIJOL
 GERMINADOR VRS. CAJAS DE ARENA

	%Germinación Germinador	%Germinación Cajas de Arena	X	x	x ²
A	89	86	3	3.187	10.156
B	90	94	-4	-3.813	14.538
C	91	91	0	0.187	0.034
D	94	86	8	8.187	67.026
E	89	94	-5	-4.813	23.164
F	98	90	8	8.187	67.026
G	91	89	2	2.187	4.782
H	97	96	1	1.187	1.408
I	91	87	4	4.187	17.530
J	93	94	-1	-0.813	0.660
K	93	96	-3	-2.813	7.912
L	98	95	3	3.187	10.156
M	87	95	-8	-7.813	61.042
N	88	94	-6	-5.813	33.790
O	92	92	0	0.187	0.034
P	91	96	-5	-4.813	23.164
		TOTALES	-3	0	342.42

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = -0.187$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{342.42}{15}} = \sqrt{22.828} = 4.777$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{4.777}{4} = 1.194$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{-0.187 - 0}{1.194} = -0.156 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE FRIJOL
 GERMINADOR VRS. TETRAZOLIUM

	% Germinación Germinador	% Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	89	98	1	-1.5	2.25
B	90	84	6	3.5	12.25
C	91	92	-1	-3.5	12.25
D	94	88	6	3.5	12.25
E	89	84	5	2.5	6.25
F	98	92	6	3.5	12.25
G	91	96	-5	-7.5	56.25
H	97	92	5	2.5	6.25
I	91	88	3	0.5	0.25
J	93	88	5	2.5	6.25
K	93	92	1	-1.5	2.25
L	98	92	6	3.5	12.25
M	87	92	-5	-7.5	56.25
N	88	88	0	-2.5	6.25
O	92	88	4	1.5	2.25
P	91	88	3	0.5	0.25
TOTALES			40	0	206.90

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 2.5$$

$$sX = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{206.00}{15}} = \sqrt{13.733} = 3.705$$

$$s\bar{X} = \frac{sX}{\sqrt{n}} = \frac{3.705}{4} = 1.079$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s\bar{X}} = \frac{2.5 - 0}{1.079} =$$

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 2.316 (*) BIBLIOTECA
 DEPARTAMENTO DE I. SIS-REFERENCIA

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE FRIJOL
 CAJAS DE ARENA VRS. TETRAZOLIUM

	%Germinación Cajas de Arena	% Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	86	88	-2	-4.68	21.902
B	94	84	10	7.32	53.582
C	91	92	-1	3.68	13.542
D	86	88	-2	-4.68	21.902
E	94	84	10	7.32	53.582
F	90	92	-2	-4.68	21.902
G	89	96	-7	-9.68	93.702
H	96	92	4	1.32	1.742
I	87	88	-1	-3.68	13.542
J	94	88	6	3.32	11.022
K	96	92	4	1.32	1.742
L	95	92	3	0.32	0.102
M	95	92	3	0.32	0.102
N	94	88	6	3.32	11.022
O	92	88	4	1.32	1.742
P	96	88	8	5.32	28.302
TOTALES			43	0	349.43

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 2.68$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{349.43}{15}} = \sqrt{23.295} = 4.826$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{4.826}{4} = 1.206$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{2.68 - 0}{1.206} = 2.222 (*)$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE ARROZ
 GERMINADOR VRS. CAJAS DE ARENA

	%Germinación Germinador	%Germinación Cajas de Arena	X	x	x ²
A	92	91	1	1.250	1.563
B	95	93	2	2.250	5.063
C	97	96	1	1.250	1.563
D	91	90	1	1.250	1.563
E	90	94	-4	-3.750	14.063
F	95	98	-3	-2.750	7.563
G	93	92	1	1.250	1.563
H	95	94	1	1.250	1.563
I	93	92	1	1.250	1.563
J	92	92	0	0.250	0.063
K	91	94	-3	-2.750	7.563
L	97	96	1	1.250	1.563
M	91	91	0	0.250	0.063
N	90	93	-3	-2.750	7.563
O	97	96	1	1.250	1.563
P	96	97	-1	-0.750	0.563
TOTALES			-4	0	55.008

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = -0.250$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{55.008}{15}} = \sqrt{3.667} = 1.915$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{1.915}{4} = 0.479$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{-0.250 - 0}{0.479} = 0.522 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE ARROZ

GERMINADOR VRS. TETRAZOLIUM

	%Germinación Germinador	%Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	92	88	4	1.06	1.12
B	95	88	7	4.06	16.48
C	97	92	5	2.06	4.24
D	91	96	-5	-7.94	63.04
E	90	92	-2	-4.94	24.40
F	95	96	-1	-3.94	15.52
G	93	96	-3	-5.94	35.28
H	95	96	-1	-3.94	15.52
I	93	84	9	6.06	36.72
J	92	92	0	-2.94	8.64
K	91	88	3	0.06	0.004
L	97	84	13	10.06	101.204
M	91	88	3	0.06	0.004
N	90	92	-2	-4.94	24.40
O	97	84	13	10.06	101.204
P	96	92	4	1.06	1.12
		TOTALES	47	0	448.896

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 2.94$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{448.89}{15}} = \sqrt{29.92} = 5.47$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{5.47}{4} = 1.368$$

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{2.94 - 0}{1.368} = 2.149 (*)$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE " t "

ESPECIE ARROZ

CAJAS DE ARENA VRS. TETRAZOLIUM

	%Germinación Cajas de Arena	% Viabilidad Tetrazolium	X	x	x ²
A	91	88	3	-0.18	0.032
B	93	88	5	1.82	3.312
C	96	92	4	0.82	0.672
D	90	96	-6	-9.18	84.272
E	94	92	2	-1.18	1.392
F	98	96	2	-1.18	1.392
G	92	96	-4	-7.18	51.552
H	94	96	-2	-5.18	26.832
I	92	84	8	4.82	23.425
J	92	92	0	-3.18	10.112
K	94	88	6	2.82	7.952
L	96	84	12	8.82	77.792
M	91	88	3	-0.18	0.032
N	93	92	1	-2.18	4.752
O	96	84	12	8.82	77.792
P	97	92	5	1.82	3.312
TOTALES			51	0	374.62

MEDIA (\bar{X}) = 3.18

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{374.62}{15}} = \sqrt{24.974} = 4.997$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{4.997}{4} = 1.24$$

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s_{\bar{x}}} = \frac{3.18}{1.24} = 2.56 \quad (*)$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE " t "
 ESPECIE PINO
 CAJAS DE ARENA VRS. GERMINADOR

	%Germinación Germinador	%Germinación Cajas de Arena	X	X	X ²
A	95	93	2	1.187	1.409
B	91	90	1	0.187	0.035
C	96	93	3	2.187	4.783
D	93	96	-3	-3.813	14.539
E	98	95	3	2.187	4.783
F	93	96	-3	-3.813	14.539
G	94	92	2	1.187	1.409
H	97	94	3	2.187	4.783
I	98	96	2	1.187	1.409
J	92	95	-3	-3.813	14.539
K	95	93	2	1.187	1.409
L	93	90	3	2.187	4.783
M	93	96	2	1.187	1.409
N	95	95	1	0.187	0.035
O	91	94	-3	-3.813	14.539
P	94	93	1	0.187	0.035
TOTALES			13	0	84.438

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 0.813$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x^2}{-1}} = \sqrt{\frac{84.438}{15}} = \sqrt{5.629} = 2.372$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{2.372}{4} = 0.593$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{0.813 - 0}{0.593} = 1.371 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE PINO
 GERMINADOR VRS. TETRAZOLIUM

	%Germinación Germinador	%Viabilidad Tetrazolium	X	X	X ²
A	95	92	3	2.625	6.891
B	91	96	-5	-5.375	28.891
C	96	92	4	3.625	13.141
D	93	96	-3	-3.375	11.391
E	98	96	2	1.625	2.641
F	93	96	-3	-3.375	11.391
G	94	96	-2	-2.375	5.641
H	97	96	1	0.625	0.391
I	98	88	10	9.625	92.641
J	92	92	0	-0.375	0.141
K	95	96	-1	-1.375	1.891
L	93	92	1	0.625	0.391
M	98	92	6	5.625	31.641
N	96	96	0	-0.375	0.141
O	91	96	-5	-5.375	28.891
P	94	96	-2	-2.375	5.641
		TOTALES	6	0	241.92

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = 0.375$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum X^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{241.922}{15}} = \sqrt{16.128} = 4.016$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{4.016}{4} = 1.004$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{0.375 - 0}{1.004} = 0.374 \text{ (N.S.)}$$

COMPARACION ENTRE MEDIAS DE TRATAMIENTOS - PRUEBA DE "t"
 ESPECIE PINO

CAJAS DE ARENA VRS. TETRAZOLIUM

	%Germinación Cajas de Arena	%Viabilidad Tetrazolium	X	X̄	X ²
A	93	92	1	1.188	1.411
B	90	96	-6	-5.812	33.779
C	93	92	1	1.188	1.411
D	96	96	0	0.188	0.035
E	95	96	-1	-0.812	0.659
F	96	96	0	0.188	0.035
G	92	96	-4	-3.812	14.531
H	94	96	-2	-1.812	3.283
I	96	88	8	8.188	67.043
J	95	92	3	3.188	10.163
K	93	96	-3	-2.812	7.907
L	90	92	-2	-1.812	3.283
M	96	92	4	4.188	17.539
N	95	96	-1	-0.812	0.659
O	94	96	-2	1.812	3.287
P	93	92	1	1.188	1.411
TOTALES			-3	0	166.43

$$\text{MEDIA } (\bar{X}) = -0.188$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum X^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{166.43}{15}} = \sqrt{11.095} = 3.33$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \frac{3.33}{4} = 0.833$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s_{\bar{X}}} = \frac{0.188}{0.833} = 0.226 \quad (\text{N.S.})$$

APENDICE

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA
DEPARTAMENTO DE L. SIS-REFERENCIA

CUADRO 1
 TRATAMIENTO: GERMINADOR
 ESPECIE: MAIZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA			TERCERA REPLICA			CUARTA REPLICA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	81	9	10	88	7	5	83	6	11	89	6	5
II	86	8	6	85	6	9	85	7	8	85	8	7
III	86	6	8	84	9	7	80	9	11	81	8	11
IV	83	12	5	83	11	6	87	9	4	84	10	6

* Resultados en porcentajes

CUADRO 2
 TRATAMIENTO: CAJAS DE ARENA
 ESPECIE: MAIZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA			TERCERA REPLICA			CUARTA REPLICA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	82	7	11	80	6	14	82	3	15	80	3	16
II	84	3	13	80	4	16	83	3	14	87	1	12
III	82	2	16	87	3	10	84	2	14	80	4	16
IV	82	1	17	80	4	16	82	3	15	87	7	5

* Resultados en porcentajes

CUADRO 3
 TRATAMIENTO: TETRAZOLIUM
 ESPECIE: MAIZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA		SEGUNDA REPLICA		TERCERA REPLICA		CUARTA REPLICA	
	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES
I	84	16	88	12	84	16	80	20
II	80	20	84	16	80	20	88	12
III	80	20	80	20	88	12	88	12
IV	80	20	88	12	88	12	80	20

* Resultados en porcentajes
 Las repeticiones se realizaron c/u con 100 semillas, siendo cada réplica de 25 semillas.

CUADRO 4
 TRATAMIENTO: GERMINADOR
 ESPECIE: FRIJOL

REPETICIONES	PRIMERA REPLICIA			SEGUNDA REPLICIA			TERCERA REPLICIA			CUARTA REPLICIA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	89	11	--	90	10	--	91	9	--	94	6	--
II	89	11	--	98	2	--	91	9	--	97	3	--
III	91	9	--	93	7	--	93	7	--	98	2	--
IV	87	13	--	88	12	--	92	8	--	91	9	--

* Resultados en porcentajes

CUADRO 5
 TRATAMIENTO: CAJAS DE ARENA
 ESPECIE: FRIJOL

REPETICIONES	PRIMERA REPLICIA			SEGUNDA REPLICIA			TERCERA REPLICIA			CUARTA REPLICIA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	86	8	6	94	5	1	91	7	2	86	7	7
II	94	5	1	90	6	4	89	6	5	96	6	--
III	87	13	--	94	6	--	96	4	--	95	5	--
IV	95	4	1	94	5	1	92	6	2	96	4	--

INSTITUCION DE SERVICIOS DE GUATEMALA
 DEPARTAMENTO DE ESTADISTICA
 REPT. OFICINA

* Resultados en porcentajes

CUADRO
TRATAMIENTO:
ESPECIE:

6
TETRAZOLIUM
FRIJOL

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA		SEGUNDA REPLICA		TERCERA REPLICA		CUARTA REPLICA	
	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES
I	88	12	84	16	92	8	88	12
II	84	16	92	8	96	4	92	8
III	88	12	88	12	92	8	92	8
IV	92	8	88	12	88	12	88	12

* Resultados en porcentajes
Las repeticiones se realizaron c/u con 100 semillas,
cada réplica de 25 semillas.

CUADRO 7
 TRATAMIENTO: GERMINADOR
 ESPECIE: ARROZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICIA			SEGUNDA REPLICIA			TERCERA REPLICIA			CUARTA REPLICIA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	92	3	5	95	2	3	97	1	2	91	4	5
II	90	8	2	95	4	1	93	4	7	95	3	2
III	93	2	5	92	3	5	91	2	7	97	2	1
IV	91	4	5	90	3	7	97	2	1	96	3	1

* Resultados en porcentajes

CUADRO 8
 TRATAMIENTO: CAJAS DE ARENA
 ESPECIE: ARROZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA			TERCERA REPLICA			CUARTA REPLICA			*
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	
I	91	6	3	93	5	2	96	2	2	90	6	4	
II	94	3	3	98	2	--	92	2	6	94	3	3	
III	92	4	4	92	6	2	94	3	3	96	1	3	
IV	91	5	4	93	2	5	96	3	1	97	3	--	

* Resultados en porcentajes

CUADRO 9
 TRATAMIENTO: TETRAZOLIUM
 ESPECIE: ARROZ

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA		SEGUNDA REPLICA		TERCERA REPLICA		CUARTA REPLICA	
	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES
I	88	12	88	12	92	8	96	4
II	92	8	96	4	96	4	96	4
III	84	16	92	8	88	12	84	16
IV	88	12	92	8	84	16	92	8

* Resultados en porcentajes
 Las repeticiones se realizaron c/u con 100 semillas,
 cada réplica de 25 semillas.

CUADRO 10
 TRATAMIENTO: GERMINADOR
 ESPECIE: PINO CARIBAEA

REPETICIONES	PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA			TERCERA REPLICA			CUARTA REPLICA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	95	3	2	91	3	6	96	2	2	93	4	3
II	98	1	1	93	4	3	94	3	4	97	1	2
III	98	1	1	92	2	6	95	4	1	93	3	4
IV	98	1	1	96	3	1	91	4	4	94	3	3

* Resultados en porcentajes

CUADRO 11
 TRATAMIENTO: CAJAS DE ARENA
 ESPECIE: PINO CARIBAEA

REPETICIONES	PRIMERA REPLICIA			SEGUNDA REPLICIA			TERCERA REPLICIA			CUARTA REPLICIA		
	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS	PLANTULAS NORMALES	PLANTULAS ANORMALES	SEMILLAS MUERTAS
I	93	4	3	90	4	6	93	5	2	96	3	1
II	95	2	3	96	3	1	92	5	3	94	1	5
III	96	1	4	95	3	2	93	2	5	90	3	7
IV	96	1	3	95	4	1	94	3	3	93	4	3

* Resultados en porcentajes

CUADRO
TRATAMIENTO:
ESPECIE:

12
TETRAZOLIUM
PINO

REPETICIONES	PRIMERA REPLICÁ		SEGUNDA REPLICÁ		TERCERA REPLICÁ		CUARTA REPLICÁ	
	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES	SEMILLAS GERMINABLES	SEMILLAS NO GERMINABLES
I	94	6	98	2	94	6	98	2
II	98	2	100	--	100	--	98	2
III	92	8	100	--	98	2	94	6
IV	95	5	98	2	98	2	98	2

* Resultados en porcentajes
Las repeticiones se realizaron c/u con 100 semillas,
cada réplica de 25 semillas.

BIBLIOGRAFIA

1. ALLARD, R. W. Principios de la mejora genética de las plantas. Trad. por: José L. Montoya. España, Ediciones Omega, S. A., 1967. 498 p.
2. BRAVER, OSCAR. Fitogenética aplicada. México, Editorial Limusa, S. A., 1973. 518 p.
3. CARNAVALE, JUAN A. Arboles Forestales. 3a. Ed. Buenos Aires, Librería Hachette, S. A., 1955. 495 p.
4. CONSTANTINO, ITALO N. Y VIDAL, JOSE J. Iniciación a la Ciencia Forestal. Barcelona, Salvat Editores, S. A., 1959. 547 p.
5. MEXICO, CENTRO REGIONAL DE AYUDA TECNICA. Semillas; manual para el análisis de su calidad. Trad. por: José Meza N. México, AID/RTCA, 1965. 515 p.
6. Deliberaciones de la Asociación Internacional para el ensayo de semillas. Vol. 24 (1959) No. 3. Reglas Internacionales para el Ensayo de Semillas. MEXICO, AID/RTCA, 1963.
7. DUTCHER, R. ADAMS; JENSEN, CLIFFORD O. Y ALLHOUSE, PAUL. Fundamentos de Bioquímica Agrícola. Trad. por: Adolfo Roncaño. España, Salvat Editores, S. A., 1954. 474 p.
8. DEL VALLE, JOSE M. Importancia del uso de Semilla Certificada. Guatemala, Ministerio de Agricultura. Departamento de Control y Producción de Semillas, 1973. 14 p. (Mimeografiado).
9. DELOUCHE, JAMES C. *et al.* Prueba de Viabilidad de la Semilla con Tetrazol. México, AID/RTCA, 1971. 71 p.
10. GUATEMALA, DEPARTAMENTO DE CONTROL Y PRODUCCION DE SEMILLAS. Normas Reglamentarias para la Producción, Certificación y Comercialización de Semillas Agrícolas y Forestales. Guatemala, Ministerio de Agricultura, 1961. (Mimeografiado).
11. Interpretación de Plántulas en ensayos de Germinación. Guatemala, Ministerio de Agricultura, 1972. 9 p. (Mimeografiado).
12. HARTMAN, HUDSON T. Y KESTER, DALE E. Propagación de Plantas. Trad. por: Antonio Marino Ambrosio. México, Compañía Editorial Continental, S. A., 1971. 810 p.

13. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. La Manipulación de Semillas Forestales. Roma, Italia, FAO, 1956. 118 p.
14. PARSONS, FRANK G. Y MARBLE VERN L. Cómo cultivar Semilla Certificada. México, AID/RTCA, 1972. 10 p. (folleto).
15. PRATS, MANUEL. Análisis y Conservación de las Semillas de Coníferas más empleadas en España. Madrid, Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias: Servicio de Semillas, 1950. 58 p.
16. MEXICO, SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA. Manual de Laboratorio para el Análisis de Semilla Certificada. México, Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, 1975. 111 p.
17. WILSON, CARL L. Y LOOMIS, WALTER E. Botánica. Trad. por: Irina de Coll. México, UTEHA, 1968. 682 p.