

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD

I. Muestreo

A. Introducción

El muestreo es el proceso de tomar una pequeña parte o cantidad de algo para realizar pruebas o análisis; es el primer paso en las pruebas de semilla. Al muestrear, es esencial obtener: (1) Una muestra de un tamaño adecuado y (2) una muestra representativa del principal lote de semillas. Los resultados de las pruebas de laboratorio sólo pueden mostrar la calidad y las características de la muestra presentada para análisis; por ello, la validez de los resultados de las pruebas para un lote de semilla de gran tamaño se determina al obtener una muestra representativa exitosamente. El muestreo de los lotes de semilla para evaluar la calidad debe realizarse sistemáticamente, utilizando técnicas, herramientas y procedimientos adecuados para garantizar que la muestra de semillas represente al lote completo.

B. Objetivos

1. Cuantificar el lote de semillas de acuerdo con los estándares aceptados.
2. Determinar la intensidad del muestreo según el tamaño y las características de lote de semillas.
3. Aprender a manejar los instrumentos y las técnicas adecuadas de muestreo conforme a los estándares reconocidos.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son fundamentales en el muestreo de semillas:

1. Los laboratorios sólo pueden medir las propiedades de la muestra; quien muestrea debe garantizar que la muestra verdaderamente represente al lote de semillas.
2. Las muestras presentadas deben contener al menos 2,500 semillas (excepto para las semillas muy grandes de algunas especies).
3. La extracción de la muestra debe ser completamente aleatoria.
4. Es esencial contar con empaques y etiquetado adecuado.

D. Definición de los términos

A continuación se definen los términos relevantes:

1. **Lote**—Una cantidad específica de semillas que puede identificarse físicamente.
2. **Muestra primaria**—Una pequeña cantidad de semillas tomadas de un punto en el lote de semillas.
3. **Muestra compuesta**—Formada al combinar y

Tabla 13. — Pesos de lotes y muestras para matorrales y árboles (ISTA 1985).

Especie	Peso máximo	Muestra	Muestra de
	del lote de	presentada	trabajo para
	semilla		análisis de pureza
	Kilogramos	Gramos	Gramos
<i>Acacia sp.</i>	1,000	70	35
<i>Ailanthus altissima</i>	1,000	160	80
<i>Alnus rubra</i>	1,000	15	2
<i>Castanea sativa</i>	5,000	500 semillas	500 semillas
<i>Cedrela sp.</i>	1,000	80	40
<i>Eucalyptus</i>			
<i>camaldulensis</i>	1,000	15	5
<i>E. globulus</i>	1,000	60	20
<i>E. tereticornis</i>	1,000	15	5
<i>Morus sp.</i>	1,000	20	5
<i>Pinus halepensis</i>	1,000	100	50
<i>P. wallichiana</i>	1,000	250	125
<i>Quercus sp.</i>	5,000	500 semillas	500 semillas
<i>Robinia</i>			
<i>pseudoacacia</i>	1,000	100	50

mezclar todas las muestras primarias tomadas de lote de semillas.

4. **Muestra presentada**—La muestra presentada al laboratorio de pruebas.
5. **Muestra de trabajo**—Una submuestra tomada de la muestra presentada en el laboratorio.
6. **Submuestra**—Una porción de una muestra obtenida al reducir la muestra por métodos reconocidos (Tabla 13.).

E. Intensidad del muestreo

La muestra se obtiene al seleccionar pequeñas porciones al azar de varios sitios de lote y combinarlos.

1. **Calcular muestras primarias**—Cada muestra compuesta debe conformarse de al menos cinco muestras primarias.
2. **Tamaño del lote de semillas**—Para el comercio internacional de semillas de árbol, el tamaño máximo de un lote de semillas para la mayoría de las especies se estableció en 1,000 kg \pm 5 por ciento (Tabla 13.).

F. Procedimientos de muestreo

Existen tres herramientas o técnicas comunes de muestreo:

1. Los **muestreadores** se utilizan para semillas que caen libremente. Los pasos son:
 - a. Cierre las puertas antes de insertar el muestreador al tambor.
 - b. Insertar el muestreador al tambor.
 - c. Abrir las puertas.
 - d. Cerrar las puertas.

- e. Sacar el muestreador.
- f. Verter las semillas.
- 2. Los **separadores de suelo** se utilizan principalmente para lotes pequeños. Los pasos son:
 - a. Verter las semillas a través de un separador varias veces para mezclarlas.
 - b. Dividir la muestra en mitades, cuartos, etc.
- 3. El **método de mano abierta** se utiliza con semillas con granzas, alas y otras que no caen. Los pasos son:
 - a. Extender los dedos e insertar la mano directamente en las semillas.
 - b. Cerrar la mano y extraer una muestra primaria.
- G. Preparación de la muestra
 - 1. **Muestra compuesta**—Todas las muestras primarias se combinan y mezclan (Tabla 13).
 - 2. **Muestra de trabajo**—La muestra presentada se reduce a la muestra de trabajo:
 - a. Con el método mecánico de división.
 - b. Con el método de tazas aleatorias.
 - c. Con el método de división modificada.
 - d. Con el método de la cuchara.
 - e. Con el método de división manual.
 - 3. **Semillas extra**—El remanente de la muestra presentada debe almacenarse para poder volver a hacer pruebas en caso necesario. La Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (1985) recomienda almacenarlas por un año.
- H. Fuentes

Para mayor información ver Asociación Oficial de Analistas de Semillas 1988, Edwards 1987, Asociación Internacional de Pruebas de Semillas 1985.

II. Contenido de humedad

A. Introducción

Las primeras medidas a tomar en las pruebas de semillas son humedad, pureza y peso. Todas estas medidas son importantes, pero la humedad es la más crítica. Los niveles de humedad de las semillas pueden influenciar o indicar madurez de la semilla, longevidad durante el almacenamiento y la cantidad de tratamiento previo necesario para una rápida germinación.

B. Objetivos

- 1. Aprender los principios de humedad de las pruebas oficiales para semillas.
- 2. Utilizar dichos principios en ejercicios prácticos.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son esenciales en la

prueba de contenido de humedad:

- 1. Los procedimientos oficiales de pruebas se indican a detalle.
 - 2. Muchas pruebas pueden no ser oficiales, y utilizar diferentes métodos, pero la exactitud y precisión siguen siendo fundamentales.
 - 3. Las semillas recalcitrantes de gran tamaño presentan problemas especiales que las reglas oficiales de pruebas no han tratado adecuadamente.
- ### D. Definición de los términos
- A continuación se definen los términos relevantes:
- 1. **Muestra presentada**—La muestra de semillas presentada a una estación de prueba de semillas; debe ser del doble del tamaño de la muestra de trabajo.
 - 2. **Muestra de trabajo**—Una muestra de semillas reducida tomada de la muestra presentada en el laboratorio.
 - 3. **Lote de semillas**—Una cantidad específica de semillas de calidad suficientemente uniforme.
- ### E. Medidas de humedad
- 1. **Importancia**
 - a. Es el factor más importante en la retención de la viabilidad.
 - b. Controla la actividad de los insectos y las enfermedades (Tabla 5.).
 - c. Afecta la relación de peso con el número de semillas.
 - 2. **Frecuencia**—La humedad se mide:
 - a. Después de la extracción y limpieza.
 - b. Cuando las semillas se colocan en almacenamiento.
 - c. Periódicamente durante el almacenamiento.
 - d. Cuando se envían los lotes de semillas.
 - 3. **Procedimientos**—Los resultados exactos se garantizan al:
 - a. Utilizar la muestra presentada.
 - b. Medirla inmediatamente al recibirla.
 - c. Expresar los resultados como porcentaje del peso fresco (peso húmedo), no peso seco.
 - 4. **Métodos**—El contenido de humedad puede medirse con cuatro métodos:

Tabla 14. — Niveles de tolerancia para diferencias entre dos determinaciones de contenido de humedad en semillas de árboles y matorrales (ISTA 1985).

Clase de tamaño de semilla	Semillas por kilogramo	Humedad inicial	Tolerancia
	<i>Número</i>	----	Porcentaje ----
<i>Semillas pequeñas</i>	>5,000	<12	0.3
<i>Semillas pequeñas</i>	>5,000	>12	0.5
<i>Semillas grandes</i>	<5,000	<12	0.4
<i>Semillas grandes</i>	<5,000	12-25	0.8
<i>Semillas grandes</i>	<5,000	>25	2.5

- a. Método de secado en horno—Los puntos críticos son:
- (1) Calentar las muestras durante 17 ± 1 horas a 103 ± 2 °C.
 - (2) Utilizar hornos de aire forzado.
 - (3) Colocar las muestras en recipientes de vidrio o de metal.
 - (4) Dejar espacio entre las latas en el horno.
 - (5) Enfriar las muestras en desecadores.
 - (6) De ser posible, mantener la humedad del ambiente en el laboratorio a menos del 70 por ciento.
 - (7) Pesar al miligramo más cercano.
 - (8) Moler o cortar las semillas grandes o aquellas con alto contenido de humedad.
 - (9) Secar previamente si la humedad sobrepasa el 17 por ciento en semillas que deben molerse, o 30 por ciento en otras especies.
 - (10) Revisar la tolerancia en los resultados. Las tolerancias de humedad para las semillas de

árboles son más liberales que aquellas para semillas agrícolas (Tabla 14.).

b. Medidores eléctricos:

- (1) No se permiten en pruebas oficiales de la ISTA pero son muy útiles.
- (2) Se basan en la resistencia eléctrica o capacitancia y son exactos al 1 por ciento en semillas que caen libremente.
- (3) Requiere la elaboración de tablas de calibración.
- (4) Están disponibles en varios modelos:
 - (a) Motomco—basado en capacitancia y muy exacto.
 - (b) Radson (Dole o Seedburo)—Modelo confiable en los Estados Unidos.
 - (c) Dickey-John o Insto—Basado en capacitancia.
 - (d) Super-Beha—Ampliamente usado en Europa.

c. Los instrumentos infrarrojos son hornos

Tabla 15. — *Procedimientos recomendados para pruebas de humedad de semilla de los árboles (Bonner 1981b).*

Clase de tamaño de semilla	Medida precisa o prueba oficial ISTA	Estimación rápida
Semillas pequeñas, bajo contenido de aceite (p. ej., <i>Platanus</i> , <i>Robinia</i>).	Horno: 103 ± 2 °C por 17 ± 1 horas. Muestra: 4 a 5 g.	Medidor eléctrico Muestra: 80 a 200 g, según el tipo.
Semillas pequeñas, alto contenido de aceite (p.ej., <i>Abies</i> , <i>Pinus</i> , <i>Tsuga</i> , <i>Zanthoxylum</i>).	Horno: 103 ± 2 °C por 17 ± 1 horas. Muestra: 4 a 5 g. o bien Destilación con tolueno.	Medidor eléctrico Muestra: 80 a 200 g, según el tipo.
Semillas grandes, bajo contenido de aceite, humedad <20% (p. ej., <i>Nyssa</i>).	(1) Moler o su equivalente. (2) Horno: 103 ± 2 °C por 17 ± 1 horas. Muestra: 4 a 5 g o suficiente para igualar el peso de cinco semillas.	Secando en microondas. Muestra: 4 a 5 g o suficiente para igualar el peso de cinco semillas.
Semillas grandes, bajo contenido de aceite, humedad >20% (p. ej., <i>Aesculus</i> , <i>Quercus</i>).	(1) Presecado a <20% a 130 °C de 5 a 10 minutos. (2) Moler o su equivalente. (3) Horno: 103 ± 2 °C por 17 ± 1 horas. Muestra: suficiente para igualar el peso de cinco semillas.	Secando en microondas. Muestra: suficiente para igualar el peso de cinco semillas.
Semillas grandes, alto contenido de aceite (p. ej., <i>Carya</i> , <i>Fagus</i> , <i>Juglans</i>).	(1) Moler o su equivalente. (2) Horno: 103 ± 2 °C por 17 ± 1 horas. Muestra: suficiente para igualar el peso de cinco semillas, o bien Destilación con tolueno.	Secando en microondas. Muestra: suficiente para igualar el peso de cinco semillas.

pequeños, infrarrojos con balanza integrada, que usa un método gravimétrico basado en tiempo de secado.

d. Métodos de laboratorio para investigación:

- (1) Método Karl Fischer.
- (2) Destilación de tolueno.
- (3) Resonancia magnética nuclear (no destructivo).
- (4) Espectroscopia infrarroja.

F. Resumen—Ver Tabla 15.

G. Fuentes

Para mayor información ver Bonner 1981b; Asociación Internacional de Pruebas de Semillas 1985, secciones 9, 9A; Willan 1985, p. 227-230.

III. Pureza y peso

A. Introducción

Después de determinar el contenido de humedad, la muestra presentada esta lista para las determinaciones de pureza y peso. Dichos valores son parte vital de la prueba oficial y uso práctico de las semillas, con ramificaciones legales en ambas comercializaciones de semilla, tanto doméstica como internacional.

B. Objetivos

1. Aprender los principios de las pruebas oficiales de pureza y peso de las semillas.
2. Utilizar dichos principios en ejercicios prácticos.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son fundamentales para determinar la pureza y el peso de la semilla:

1. La diferencia entre las semillas verdaderas y la basura puede ser ambigua para algunas semillas de árboles, en especial aquellas que no tienen alas.
2. Se necesita paciencia y buena vista.
3. Entre más pequeñas sean las semillas más difícil será la prueba de pureza.

D. Definición de los términos

A continuación se definen los términos relevantes:

1. **Pureza**—Es la proporción de semillas limpias e intactas de la especie designada de un lote de semillas, por lo general se expresa como porcentaje de peso.
2. **Muestra presentada**—La muestra de semillas presentada a una estación de prueba de semillas; debe ser del doble del tamaño de la muestra de trabajo.
3. **Muestra de trabajo**—Una muestra de semillas reducida tomada de la muestra presentada en el laboratorio, en la que se realizan pruebas de calidad de la semilla.
4. **Lote de semillas**—Una cantidad específica de

semillas de calidad suficientemente uniforme; el tamaño máximo del lote es de 1,000 kg (5,000 kg para *Fagus* y semillas de mayor tamaño).

E. Pureza

1. **Procedimiento**—Se siguen las reglas de la ISTA (1985) para las pruebas de pureza. Los pasos son:

- a. Reducir la muestra presentada (después de mezclarla) a la muestra de trabajo con:
 - (1) Separadores mecánicos.
 - (2) Tazas aleatorias.
 - (3) División modificada.
 - (4) Método de la cuchara.
 - (5) División manual (semillas con graznas, alas y grandes).
- b. Dividir la muestra de trabajo en fracciones de
 - (1) Semillas puras.
 - (2) Otras semillas.
 - (3) Materia inerte.
- c. Pesar y expresar cada uno como porcentaje del peso total de la muestra.

2. **Componente de semilla pura**—Este componente contiene:

- a. Unidades intactas de la semilla de la especie deseada.
- b. Pedazos de unidades de semilla más grandes que la mitad del tamaño original, incluso si están quebrados.

3. **Detalles de las semillas de los árboles**

- a. Las semillas de Leguminosae, Cupressaceae, Pinaceae y Taxodiaceae con cubiertas que pueden desprenderse completamente son materia inerte.
- b. En *Abies*, *Larix*, *Libocedrus*, *Pinus elliotii*, *P. echinata*, *P. rigida*, *P. taeda* y *Pseudotsuga*, las alas o los fragmentos de alas se desprenden y descartan y se colocan en la fracción de materia inerte. Otras especies de *Pinus* retienen los fragmentos de alas (ver “a” anterior).
- c. Para las sámaras, las alas no se retiran (p. ej., *Acer*, *Fraxinus*, *Cedrela* y *Swietenia*).
- d. Para las drupas, la cubierta carnosa no se retira.
- e. En *Eucalyptus*, para especies con semillas pequeñas, se utiliza un procedimiento simplificado; sólo se eliminan otras semillas y materia inerte que obviamente no es semilla.
- f. Para Leguminosae, si hay una parte de testa presente, debe clasificarse como semilla pura.
- g. Si no pueden distinguirse las especies, sólo se proporciona el nombre del género en el certificado.

F. Peso de la semilla

1. **Determinación**—Las reglas de la ISTA (1985) se utilizan para determinar adecuadamente el peso de

la semilla. Se utiliza toda la muestra de trabajo o reproducciones de la misma.

- a. Muestra de trabajo—Pesar toda la fracción de semilla pura.
- b. Reproducciones—Contar y pesar 8 reproducciones de 100.

2. **Reportar los resultados**—Los resultados se reportan de una de dos maneras:

- a. 1,000-peso de la semilla.
- b. Semillas por gramo (o por kilogramo, onza o libra).

G. Fuentes

Para información adicional ver Asociación Internacional de Pruebas de Semillas 1985, sec. 3, 3A, 10; Willan 1985, p. 198-202, 221.

IV. Pruebas de germinación

A. Introducción

Las buenas pruebas son el pilar de cualquier programa de semillas, sin importar el tipo de semilla: agrícola, forestal, agroforestal o bien ornamental. La calidad de las semillas utilizadas debe medirse y describirse. Las pruebas de semillas podrán tener ramificaciones legales debido a su conexión con la venta de las mismas. Por ello, la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (ISTA) coordina los esfuerzos internacionales para estandarizar las pruebas. Debe conocerse la calidad de las semillas para su uso eficiente y eficaz en los programas de reforestación o forestación.

B. Objetivos

1. Identificar las organizaciones internacionales que participan en las pruebas de semillas de árboles y cómo proporcionan sus recomendaciones.
2. Aprender los principios de las pruebas de germinación y cómo se utilizan en el laboratorio para condiciones estándares.
3. Practicar pruebas de germinación en el laboratorio.
4. Aprender las técnicas comprobadas para analizar los datos de germinación y cómo dichos datos pueden expresarse.
5. Aprender la aplicación de los resultados de las pruebas de germinación en condiciones prácticas de viveros y el campo.
6. Aprender las técnicas para estimaciones rápidas de la calidad de las semillas cuando no se tiene el tiempo o las instalaciones adecuadas o éstos son limitados.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son fundamentales para realizar pruebas de germinación:

1. Las pruebas de germinación de laboratorio están diseñadas para proporcionar las condiciones óptimas para la germinación y para determinar el potencial total de germinación de las semillas bajo dichas condiciones.
2. Las principales condiciones a considerar son la temperatura, la luz, la aireación y la humedad.
3. Las estimaciones rápidas de germinación son sólo eso – estimaciones; no son tan precisas como las pruebas de germinación.
4. Si se requieren más de 60 días para una prueba de germinación, los analistas deben utilizar estimaciones rápidas como prueba oficial.
5. Las pruebas de germinación en el curso de la investigación pueden requerir métodos y equipo diferente al oficial.
6. Sin importar qué tan estandarizada esté la recomendación de la prueba, el cálculo del analista debe prevalecer en el laboratorio.

D. Definición de términos

La definición de los términos relevantes en las pruebas de germinación corresponde al glosario desarrollado por el Grupo del Proyecto de Problemas con Semillas de la Unión Internacional de Organizaciones de Investigación Forestal (IUFRO) (Bonner 1984a). A continuación se definen dichos términos:

1. **Plántulas anormales**—En análisis de semillas, las plántulas que no cuentan con todas las estructuras normales necesarias para el crecimiento y que no muestran la capacidad para un desarrollo continuo.
2. **Semilla llena**—Semilla con todos los tejidos esenciales para la germinación.
3. **Germinación**—Reanudación del crecimiento activo del embrión dando como resultado que brote de la semilla y el desarrollo de las estructuras esenciales para el crecimiento de la planta.
4. **Capacidad de germinación**—Proporción de una muestra de semillas que ha germinado de manera normal en un período de prueba específico, por lo general expresado como porcentaje.
5. **Energía de germinación**—La proporción de germinación que ocurre hasta el momento del pico en la germinación, el período de la tasa máxima de germinación o algún punto preseleccionado, generalmente 7 días de análisis. (El tiempo crítico de medición puede seleccionarse a través de diferentes medios).
6. **Porcentaje de germinación**—Ver capacidad de germinación.
7. **Semillas duras**—Semillas que permanecen duras

y sin germinar al finalizar un período de pruebas dado, debido a que su testa impermeable ha impedido que absorban agua.

8. **Pico en la germinación**—Tiempo específico cuando la tasa de germinación es la más alta. Puede derivarse de muchas maneras. (Ver *Energía de germinación*).
 9. **Pretratamiento**—Cualquier tipo de tratamiento aplicado a las semillas para romper la latencia y acelerar la germinación.
 10. **Pureza**—Proporción de semillas limpias, intactas, de la especie designada en un lote de semillas, por lo general expresada como porcentaje del peso.
 11. **Muestra presentada**—Muestra de semillas presentada a la estación para análisis.
 12. **Muestra de trabajo**—Muestra reducida tomada de la muestra presentada al laboratorio, en la que se realizan algunas pruebas de calidad de la semilla.
 13. **Lote de semillas**—Cantidad específica de semillas de una calidad suficientemente uniforme.
 14. **Calidad de las semillas**—Término general que puede referirse a la pureza, a la capacidad de germinación o al vigor de un lote de semillas.
 15. **Semilla sana**—Una semilla en cuenta con todos los tejidos necesarios para la germinación en condiciones viables.
 16. **Tolerancia**—Una desviación permitida (más o menos) a partir de un estándar. En el análisis de semillas, la diferencia permitida entre o dentro de mediciones replicadas más allá de las cuales se deben repetir las mediciones.
 17. **Vigor**—Aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para que las plántulas normales broten de manera rápida y uniforme y se desarrollen bajo una amplia gama de condiciones de campo.
- E. Evaluación de la calidad
- Los siguientes principios son fundamentales para evaluar la germinación satisfactoriamente:
1. El muestreo debe ser bueno; las pruebas describen únicamente a la muestra.
 2. Las pruebas bajo condiciones estándares y óptimas garantizan que:
 - a. Se determina el potencial máximo absoluto del lote.
 - b. Todos los laboratorios puedan duplicar las condiciones estándar para comparar pruebas.
- F. Metodología
- Las pruebas satisfactorias de germinación dependen de métodos adecuados:
1. **Componente de semilla pura**—Sólo se utiliza el componente de semilla pura en las pruebas (4 repeticiones de 100 semillas cada una).
 2. **Condiciones ambientales**—Deben controlarse cuidadosamente la temperatura, la luz, la humedad y el medio.
 - a. Los requisitos de temperatura difieren según la especie. Deben seguirse las recomendaciones de la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas.
 - b. Los requisitos de luminosidad también se explican a detalle en las reglas de la ISTA.
 - c. El medio de germinación debe ser no tóxico; puede ser material natural o sintético.
 - (1) Los materiales naturales incluyen tierra, arena, turba y otros materiales orgánicos.
 - (2) Los materiales sintéticos incluyen papel secante, toallas de papel, relleno de celulosa (Kimpako), papel filtro, agar y tela.
 3. **Humedad**—El exceso de humedad es un problema común en muchas pruebas.
 4. **Equipo**—El equipo de germinación debe ser confiable.
 - a. Germinadores de gabinete.
 - b. Tablas Jacobsen.
 - c. Salas con acceso directo.
 - d. Contenedores pequeños (cajas de petri y cajas plásticas).
 5. **Procedimientos de análisis**.
 - a. Pretratamiento.
 - (1) Tratamiento para microorganismos/patógenos.
 - (2) Superar la latencia (germinación retrasada).
 - (a) Estratificación (preenfriamiento).
 - (b) Tratamiento químico (nitratos, peróxido de hidrógeno y reguladores del crecimiento).
 - (c) Escarificación para semillas duras.
 - b. Colocación de las muestras.
 - c. Conteo.
 - (1) Definir “semilla germinada”.
 - (2) Contar la frecuencia; el mínimo es semanal.
 - (3) Reconocer a las plántulas anormales; las anomalías comunes son plántulas albinas, raíces pasmadas, geotropismo negativo, collares del “endospermo” y áreas necróticas.
 - d. Duración de la prueba.
 - e. Determinar la condición de las semillas no germinadas.
 6. **Tolerancia y volver a hacer pruebas**.
 - a. Revisar los conceptos oficiales de las pruebas.
 - b. Los analistas deben tener presente otras razones por las cuales volver a hacer pruebas:
 - (1) Demasiada latencia; preenfriamiento adicional necesario.

- (2) Demasiada infección de hongos; aumentar la distancia entre las semillas en el papel secante o hacer pruebas en la arena o en la tierra.
- (3) Distinción normal/anormal poco clara.
- (4) Pruebas de errores humanos.

G. Consideraciones para pruebas adicionales

- 1. Placas del termogradiante.
- 2. Pruebas de las camas del invernadero o vivero.
- 3. Pruebas por peso (p. ej., *Eucalyptus* y *Betula*).
- 4. *Quercus* y otras semillas de gran tamaño pueden cortarse a la mitad.

H. Reportar los resultados

- 1. **Capacidad de germinación.**
- 2. **Tasa de germinación.**
 - a. Energía de germinación.
 - b. Tiempo promedio de germinación (TPG).
 - c. Tiempo para que ocurra cierta proporción de la germinación (p. ej., número de días para que el 50 por ciento de las semillas germinen).
 - d. Valor de la germinación (VG).
 - e. Valor del pico (VP).

I. Revisión práctica

J. Fuentes

Para información adicional ver Bonner 1984a, 1984b; Czabator 1962; Edwards 1987; Asociación Internacional de Pruebas de Semillas 1985, sec. 5, 5A, 11; Willan 1985, p. 202-227.

V. Pruebas rápidas: Corte, tinciones vitales, extirpación del embrión y peróxido de hidrógeno

A. Introducción

El estándar para juzgar la calidad de las semillas siempre es una prueba de germinación bajo condiciones óptimas. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias, no es posible realizar pruebas de germinación y deben utilizarse las denominadas “pruebas rápidas” para estimar la calidad de la semilla. Cuando se llevan a cabo adecuadamente, las pruebas rápidas pueden proporcionar información valiosa a los usuarios, analistas y administradores de semillas.

B. Objetivos

- 1. Aprender los diferentes tipos de pruebas rápidas y cómo realizarlos.
- 2. Reconocer las limitaciones de cada prueba y cuándo deben utilizarse.
- 3. Estudiar la interpretación de los resultados de las pruebas.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son esenciales para realizar pruebas rápidas:

- 1. La prueba de corte es la más rápida y sencilla y

puede ser sumamente útil con semillas frescas.

- 2. Las pruebas con tinciones vitales revelan más que el potencial de germinación, pero su interpretación es subjetiva.
- 3. La radiografía de rayos X es la más costosa, pero no necesariamente la mejor de las pruebas rápidas. En algunas situaciones resulta muy eficaz.
- 4. La conductividad en lixiviado es un método nuevo y prometedor.

D. Uso de las pruebas rápidas

Las pruebas rápidas se utilizan cuando se presenta una de las siguientes condiciones.

- 1. **Regla de 60 días de la ISTA**— Si la prueba de germinación requiere más de 60 días para concluirse, entonces debe utilizarse una prueba rápida.
- 2. **Los solicita el usuario.**
- 3. **El suministro de semillas es limitado.**
- 4. **Es necesaria una revisión de la calidad durante la recolección.**
- 5. **Existen otros objetivos de análisis.**

E. Muestreo

Los mismos principios y precauciones de muestreo se aplican a las pruebas rápidas para los análisis de germinación estándar.

F. Métodos de prueba

Existen seis pruebas rápidas que se aplican a las semillas de los árboles.

1. Corte

- a. Técnica: Las semillas se cortan por la mitad a lo largo y se examinan todos los tejidos.
- b. Evaluación: Las semillas buenas son firmes con buen color.
- c. Ventajas:
 - (1) Rápida y económica.
 - (2) Puede realizarse en el campo.
 - (3) Precisa en semillas frescas.
- d. Desventajas:
 - (1) Tiene limitaciones de tamaño.
 - (2) Produce resultados pobres con las semillas almacenadas.
 - (3) Es una prueba destructiva.

2. Tinciones vitales

- a. Técnica: Se expone el embrión y los tejidos de almacenamiento al cortar y manchar. El sitio y la intensidad de la tinción indican tejido viable o muerto.
- b. Opciones de tinciones:
 - (1) Cloruro de tetrazolio (TZ) (más ampliamente utilizado) tiñe el tejido vivo de color rojo.
 - (2) El índigo carmín tiñe los tejidos muertos de azul.
 - (3) Sales de selenio o telurio.

- c. Evaluación (sólo TZ):
 - (1) El tejido sano debe teñirse de carmín.
 - (2) El análisis de “tinción topográfica” es el más preciso, pero es el más difícil de estandarizar.
 - (3) La ISTA (1985) recomienda TZ para ciertas especies latentes.
- d. Ventajas
 - (1) Rápida, la tinción puede leerse en 24 horas.
 - (2) Económica.
 - (3) Las necesidades de equipo son sencillas.
- e. Desventajas
 - (1) Mucho trabajo.
 - (2) Dificultad para obtener una penetración uniforme de la tintura.
 - (3) Dificultad para interpretar la tinción.
 - (4) Requiere práctica y experiencia.
 - (5) Prueba destructiva.

3. Extirpación del embrión

- a. Técnica: Se cortan y abren las semillas y se incuban los embriones en cajas.
- b. Evaluación
 - (1) Las semillas viables son verdes y blancas, con algún crecimiento.
 - (2) Las semillas no viables son oscuras y con moho, sin crecimiento.
- c. Ventajas
 - (1) Necesidades sencillas de equipo.
 - (2) Se examina el verdadero desempeño de la semilla.
 - (3) Fácil de evaluar.
- d. Desventajas
 - (1) Mucho trabajo.
 - (2) Requiere práctica para una extirpación adecuada.
 - (3) Lenta (10 a 14 días)
 - (4) Prueba destructiva.

4. Peróxido de hidrógeno

- a. Técnica: Se corta la cubierta de la semilla para exponer la radícula y se incuban las semillas en peróxido de hidrógeno al 1 por ciento. Se mide el crecimiento de la radícula.
- b. Evaluación: Basada en el crecimiento de la radícula.
- c. Ventajas
 - (1) Prueba económica.
 - (2) Parcialmente objetiva.
 - (3) Sencilla preparación.
- d. Desventajas
 - (1) No es práctica para semillas muy pequeñas.
 - (2) Sólo se hacen pruebas en coníferas.
 - (3) Prueba destructiva.
 - (4) Lenta (7 a 8 días).

5. Radiografía de rayos X

- a. Técnica: Las semillas intactas se exponen a rayos X suaves y se estudian las imágenes capturadas en película.
- b. Evaluación: La evaluación es muy subjetiva.
- c. Ventajas
 - (1) Rápida.
 - (2) Proporciona una imagen permanente.
 - (3) No destruye.
- d. Desventajas
 - (1) El equipo es costoso.
 - (2) Se requiere una amplia capacitación.
 - (3) La interpretación es subjetiva.

6. Conductividad en lixiviado

- a. Técnica: Las semillas se filtran en agua desionizada de 24 a 48 horas; posteriormente se mide la conductividad en lixiviado.
- b. Evaluación: La relación entre la conductividad y la germinación debe establecerse para cada especie.
- c. Ventajas
 - (1) No requiere equipo costoso.
 - (2) Rápida y sencilla.
 - (3) Medida objetiva.
 - (4) No destructiva.
- d. Desventajas
 - (1) Medida indirecta de la calidad de la semilla.
 - (2) Factores desconocidos siguen causando problemas.

G. Fuentes

Para mayor información ver Asociación Internacional de Pruebas de Semillas 1985, anexo al cap. 6, ap. B; Leadem 1984; Willan 1985, p. 221-226.

VI. Pruebas rápidas: Rayos X y conductividad en lixiviado

A. Introducción

Al igual que otras pruebas rápidas, la radiografía ofrece una estimación rápida de la calidad de las semillas cuando no se tiene el tiempo para una prueba completa de germinación. La aplicación de la radiografía en rayos x a la ciencia de las semillas es una de las pocas tecnologías que se originó con semillas de árboles a diferencia de semillas agrícolas. Aún no ha cumplido su promesa inicial, pero existen muchas aplicaciones con semillas. Muchas de las estimaciones rápidas de la calidad de la semilla tienen desventajas importantes: un alto costo, interpretaciones subjetivas, tiempo excesivo, etc. El método de conductividad en lixiviado ofrece una prueba que cumple con todos los requisitos: bajo costo; rápida, medidas objetivas; procedimientos fáciles y no destructiva. Aunque relativamente

nueva, es muy prometedora.

B. Objetivos

1. Revisar la teoría de los rayos x y ver cómo pueden utilizarse en la radiografía de semillas.
2. Aprender los principios de la interpretación de radiografías de semillas.
3. Estudiar las bases fisiológicas para las pruebas en lixiviado.
4. Aprender la metodología de lixiviado.
5. Reconocer las ventajas y desventajas de ambas técnicas.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos son esenciales para comprender los dos métodos:

1. Muchos tipos de daño a las semillas pueden detectarse al hacer pruebas con rayos x.
2. El desarrollo del embrión puede medirse de manera precisa, pero no son posibles las correlaciones exactas con la germinación.
3. El uso de agentes de contraste puede aumentar la cantidad de información que se obtiene de las radiografías; sin embargo, muchos de estos agentes matan a las semillas.
4. Hay muchas técnicas radiográficas especiales disponibles, pero muchas requieren equipo asociado con la tecnología médica de rayos x.
5. Conforme las semillas se deterioran, las membranas celulares se dañan, permitiendo la lixiviación de muchas sustancias de las semillas.
6. Pueden detectarse muchos grupos químicos, pero la actividad electrolítica es la más fácil de medir.
7. Las buenas estimaciones de la calidad son posibles con muchas de las especies, pero se siguen prefiriendo las pruebas de germinación como medida estándar para la calidad de la semilla.
8. El método de conductividad es prometedor, pero es necesaria una mayor investigación.

D. Rayos X

1. Teorías

- a. Los rayos x son energía electromagnética de longitud de onda muy corta. Los rayos x penetran los materiales que absorben o reflejan luz, y a su vez los absorbe el objeto.
- b. Las radiografías son imágenes del objeto formado a partir de los rayos x que pasan a través del mismo y produce material fotográfico.
 - (1) La calidad de la radiografía se define por el contraste, la densidad y la definición de la imagen.
 - (2) La calidad se controla por kilovoltaje (kV), miliamperaje (mA), tiempo de exposición, distancia de foco y filme (FFD) y distancia de objeto y filme (OFD).

2. Métodos

- a. Equipo: Existen varios tipos de equipo para rayos x disponibles de manera comercial.
- b. Película: Existen varias opciones de película disponibles, incluyendo:
 - (1) Película tradicional.
 - (2) Película polaroid.
 - (3) Papel radiográfico.
- c. Agentes contrastantes: Los agentes contrastantes se utilizan para aumentar la densidad de ciertos tejidos de la semilla en la radiografía.
 - (1) Los agentes acuosos son principalmente soluciones con una carga pesada de sales catiónicas (p. ej., cloruro de bario y nitrato de plata).
 - (2) Agentes vaporosos: cloroformo u otros derivados halógenos de alcanos.
- d. La seguridad es un aspecto importante de la radiografía de las semillas.

3. Técnicas especiales—Principalmente para su uso en la investigación, éstas incluyen:

- a. Estereoradiografía.
- b. Tomografía.
- c. Xeroradiografía.

4. Usos en pruebas de semillas—Los rayos x se utilizaron inicialmente en semillas en Suecia en 1903.

- a. Los usos más eficaces son:
 - (1) Para determinar la anatomía de las semillas.
 - (2) Para determinar el daño por insectos.
 - (3) Para determinar el daño mecánico.
- b. Los rayos x tienen una utilidad limitada en la determinación de la viabilidad.

E. Conductividad en lixiviado

1. Puntos principales—Conforme las semillas se deterioran, las sustancias pueden lixivarse en proporción al grado de deterioro. Los azúcares, los aminoácidos y los electrolitos son algunos de los materiales que pueden medirse.

2. Técnicas—La conductividad en lixiviado puede medirse de dos maneras:

- a. Analizadores de semillas múltiples
 - (1) Ventajas
 - (a) Rápido.
 - (b) Recibe aportaciones de semillas individuales.
 - (c) Los datos se imprimen en cinta de papel.
 - (d) Algunos modelos pueden calcular estadísticas.
 - (2) Desventajas
 - (a) Alto costo (US\$6,500).
 - (b) Algunos equipos no son confiables.

(c) Se desconoce la influencia en la relación de conductividad/germinación.

b. Técnicas de investigación individual

(1) El manual de la ISTA incluye este modelo para chícharos en las pruebas de vigor (Perry 1981).

(2) Ventajas

(a) Rápido.

(b) Equipo económico.

(c) Completamente objetivo.

(d) Precisión en la mayoría de las especies en un 10 por ciento de germinación.

(3) Desventaja: Algunos factores tienen un efecto desconocido.

F. Fuentes

Para mayor información sobre rayos x ver Vozzo 1978, 1988; Willan 1985, p. 224-226. Para más información sobre conductividad en lixiviado ver Bonner 1991a, Perry 1981.

VII. Pruebas de vigor

A. Introducción

Las pruebas estándar de germinación no miden de manera adecuada la habilidad de germinación de las semillas ni la producción de plántulas normales en condiciones de campo debido a que las pruebas de germinación se realizan en el laboratorio bajo condiciones óptimas. Dichas condiciones rara vez suceden en el campo, de modo que la germinación y la emergencia puede ser mucho más baja que en el laboratorio. Por ello, se ha buscado una medida de la calidad de la semilla más susceptible por parte de quienes se preocupan por la calidad de plantación de un lote de semillas. A esta medida de la calidad de la semilla se le denomina vigor de la semilla. Las pruebas de vigor añaden información complementaria sobre la calidad de las semillas a la información que se obtiene con otras pruebas.

B. Objetivos

1. Aprender el concepto de vigor de la semilla y comprender cómo puede ayudar a los usuarios de semillas.
2. Familiarizarse con los tipos de pruebas del vigor de las semillas y saber cuáles son los más adecuados para las semillas de los árboles.

C. Puntos clave

Los siguientes puntos clave son fundamentales para interpretar las pruebas de vigor:

1. El vigor es una cualidad de la semilla que una prueba de germinación estándar puede indicar o no.
2. El vigor es más importante bajo condiciones de

campo adversas, también puede indicar el potencial de almacenamiento de un lote de semillas.

3. Las pruebas de vigor por lo general implican medidas directas o indirectas.
4. Para muchas semillas de árboles, la tasa de germinación es la mejor expresión del vigor.

D. Definición de términos

1. Vigor

a. La Asociación de Analistas Oficiales de Semillas lo define como “aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para que las plántulas normales broten de manera rápida y uniforme y se desarrollen bajo una amplia gama de condiciones de campo” (AOSA 1983).

b. La Asociación Internacional de Pruebas de Semillas lo denomina como “la suma de las propiedades que determinan el nivel potencial de actividad y desempeño de una semilla o de un lote de semillas durante la germinación y el brote de la plántula” (Perry 1981).

c. La Unión Internacional de Organizaciones de Investigación Forestal lo define como “aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para que las plántulas normales broten de manera rápida y uniforme y se desarrollen bajo una amplia gama de condiciones de campo” (Bonner 1984a).

2. **Calidad de la semilla**—“Término general que puede referirse a la pureza, a la capacidad de germinación o al vigor de un lote de semillas” (Bonner 1984a).

E. Conceptos del vigor de la semilla

1. **Calidad fisiológica**—La calidad fisiológica de los lotes de semilla varía enormemente. Esto lo ejemplifica las diferentes tasas de germinación en un mismo lote de semillas, la variación en las tasas de crecimiento y los tamaños de las plántulas producidas, así como la habilidad de algunas semillas de producir plántulas bajo condiciones adversas cuando otras no lo hacen. La calidad fisiológica de las semillas comúnmente se denomina vigor.

2. **Madurez fisiológica**—Las semillas alcanzan su máxima capacidad de germinación y vigor durante el proceso de maduración a su máximo peso seco, o la etapa de “madurez fisiológica”. Al alcanzar la madurez fisiológica empieza el deterioro y continúa hasta la muerte de la misma. El proceso no puede detenerse pero la tasa de deterioro puede, hasta cierto punto, controlarse. El vigor disminuye a diferentes tasas en semillas diferentes.

3. **Deterioro**—El vigor de las semillas disminuye

más rápido que la habilidad de germinación. La primera indicación de deterioro es la pérdida de vigor. Por lo tanto, una semilla puede germinar incluso cuando algunas de sus funciones físicas puedan haberse afectado. La habilidad de producir plántulas bajo condiciones de estrés y el crecimiento y rendimiento de plantas puede verse afectado conforme el vigor disminuye. Por lo tanto, el vigor es una medida más integral de la calidad de la semilla que la prueba estándar de germinación.

4. **Estrategia**—La estrategia general para determinar el vigor de la semilla es medir cierto aspecto del desempeño o condición de la misma que refleje el grado de deterioro o la deficiencia genética. No es fácil desarrollar una buena prueba para esta estrategia. Una prueba práctica de vigor debe:
- Poderse reproducir.
 - Poderse interpretar fácilmente.
 - Indicar el potencial de desempeño en campo.
 - Tomar un período de tiempo razonable.
 - No requerir equipo costoso.
 - No requerir una amplia capacitación.

F. Pruebas comunes para el vigor de la semilla

Las pruebas de vigor pueden agruparse en cuatro categorías:

1. **Crecimiento y evaluación de la plántula**

- Clasificación del vigor de la plántula.
- Tasa de crecimiento de la plántula.

2. **Pruebas de estrés**

- Envejecimiento acelerado.
- Prueba de frío.
- Prueba de germinación en frío.
- Estrés osmótico.
- Tratamiento de metanol.

3. **Pruebas bioquímicas**

- Tinción con cloruro de tetrazolio (TZ).
- Actividad de trifosfato de adenosina (ATP).
- Actividad de decarboxilasa de ácido glutámico (GADA).
- Absorción de oxígeno (respiración).
- Pruebas en lixiviado.
 - Azúcares.
 - Aminoácidos.
 - Electrolitos.

4. **Datos de germinación**

- Modelaje matemático de la respuesta de germinación.
 - Distribución normal.
 - Regresiones polinomiales para ajustar a la curva.
 - Función logística.

(4) Transformación probit.

(5) Función de Weibull.

b. Tasa de germinación.

(1) Conteos anticipados.

(2) Percentiles.

(3) Tiempo de germinación promedio (TGP).

(4) Valor de la germinación (VG) y valor del pico (VP).

G. Recomendaciones para las semillas de árboles—Las siguientes pruebas tienen mayor potencial en semillas de árbol:

1. **Parámetros de la tasa de germinación.**

2. **Pruebas de crecimiento de las plántulas.**

3. **Tinción con tetrazolio para semillas grandes.**

4. **Envejecimiento acelerado.**

5. **Conductividad en lixiviado.**

H. Fuentes

Para mayor información sobre pruebas de vigor consultar Asociación de Analistas Oficiales de Semillas 1983; Blanche y otros 1988; Bonner 1986b; Perry 1981; Willan 1985, cap. 9.