

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



“PRUEBAS DE VIGOR EN SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.)”

Presentada por:

MILAGROS JUDITH CHACÓN RUBIO

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

Lima – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

“PRUEBAS DE VIGOR EN SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.)”

Presentada por:

MILAGROS JUDITH CHACÓN RUBIO

Tesis para optar por el Título de

INGENIERO AGRÓNOMO

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

.....
Dr. Hugo Soplín Villacorta

PRESIDENTE

.....
Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo

ASESORA

.....
Mg. Sc. Hugo Ramos Inca Roca

MIEMBRO

.....
Mg. Sc. Juan Carlos Melchor Jaulis Cancho

MIEMBRO

Lima- Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres Jaime y Rita, por haberme dado la oportunidad de tener una carrera profesional, por su apoyo incondicional, dedicación y cariño.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fortaleza constante y ser mi guía.

A mis padres y a mis abuelitos, por haber sido la base de mi formación. Cada uno de ustedes han aportado grandes cosas a mi vida.

A mi patrocinadora, Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo, por su dedicación, apoyo y confianza para poder realizar el presente trabajo de investigación.

Al Dr. Hugo Soplín Villacorta, quien compartió sus conocimientos durante el desarrollo de esta investigación.

Al Mg. Sc. Hugo Ramos Inca Roca, por su apoyo y tiempo ante cualquier consulta.

Al Mg. Sc. Jorge Luis Rubio Donet, por su aporte en la parte estadística de este trabajo de investigación, por compartir sus conocimientos, por su tiempo, dedicación y gran apoyo siempre.

A la Ing. Susana Chumbiauca, por haberme permitido realizar esta investigación en el Laboratorio Oficial de Análisis de Semillas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), por compartir sus conocimientos y por todo su apoyo en el desarrollo de este trabajo.

A la Ing. Esther Ircañaupa, por su apoyo y dedicación para poder realizar este trabajo de investigación.

A Gladys, Lupe y Lourdes por su gran ayuda en el desarrollo de la parte experimental y por compartir su experiencia y conocimientos.

A la empresa Hortus por facilitarme las semillas que usé como material de trabajo para esta investigación.

A Bruno por apoyarme y acompañarme en todo momento, por todo su cariño y por demostrarme que puedo contar con él siempre.

A mi hermana Gabriela, por darme ánimos para seguir adelante y por apoyarme en todo.

A Anilu, por su gran amistad y su apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL

	PÁG.
I. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Justificación	13
1.2. Alcance del estudio	14
1.3. Objetivos de la investigación.....	15
1.3.1. Objetivo principal	15
1.3.2. Objetivos específicos.....	15
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	16
2.1. Pureza	17
2.2. Germinación	18
2.2.1. La regla del 50 por ciento.....	18
2.2.2. Germinación estándar.....	18
2.3. Calidad de semillas	19
2.4. Semilla certificada.....	21
2.5. Semilla comercial.....	21
2.6. Vigor.....	21
2.6.1. Objetivos de las pruebas de vigor	22
2.6.2. Pruebas de vigor directas.....	23

a.	Prueba de Hiltner	23
b.	Prueba de frío.....	24
2.6.3.	Pruebas de vigor indirectas.....	26
a.	Primer conteo de germinación estándar	26
b.	Ensayo de conductividad eléctrica.....	28
c.	Prueba de tetrazolio.....	30
d.	Prueba de envejecimiento acelerado	31
2.7.	Ensayos de germinación en laboratorio.....	34
2.7.1.	Plántulas normales	34
2.7.2.	Plántulas anormales.....	37
2.7.3.	Semillas no germinadas.....	44
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1.	Lugares de ejecución de los ensayos.....	45
3.2.	Materiales y equipos.....	45
3.3.	Metodología	46
3.3.1.	Muestras de trabajo	46
3.3.2.	Prueba de germinación estándar	46
3.3.3.	Prueba de frío.....	47
3.3.4.	Prueba de envejecimiento acelerado	49
3.3.5.	Pruebas de emergencia en campo	50

a.	Prueba en campo	50
b.	Prueba en bandejas	51
3.4.	Análisis estadístico	51
3.4.1.	Diseño experimental.....	51
3.4.2.	Análisis de varianza	52
3.4.3.	Coefficiente de correlación	53
3.4.4.	Coefficiente de determinación	53
3.5.	Parámetros evaluados	54
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
4.1.	Pruebas de laboratorio	55
4.1.1.	Prueba de germinación estándar	55
4.1.2.	Prueba de frío	57
4.1.3.	Prueba de envejecimiento acelerado	60
4.2.	Pruebas de emergencia en campo	62
4.2.1.	Prueba de campo	62
4.2.2.	Prueba en bandejas	63
4.3.	Análisis estadístico	64
4.3.1.	Comparación de medias	64
a.	Entre lotes	64
b.	Entre las pruebas del lote A	64

c.	Entre las pruebas del lote B	66
d.	Entre las pruebas de laboratorio.....	67
e.	Entre las pruebas de campo	68
f.	Entre las cinco pruebas de ambos lotes.....	69
4.3.2.	Coeficiente de correlaciones.....	72
4.3.3.	Coeficiente de determinación	74
V.	CONCLUSIONES	75
VI.	RECOMENDACIONES	76
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	77
VIII.	ANEXOS	81

ÍNDICE DE TABLAS

PÁG.

Cuadro 1: Porcentaje de germinación en el último conteo de la prueba de germinación estándar	56
Cuadro 2: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de germinación estándar	57
Cuadro 3: Porcentaje de germinación de la prueba de frío.....	58
Cuadro 4: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de frío	60
Cuadro 5: Contenido de humedad de las semillas de ambos lotes antes y después de realizar la prueba de envejecimiento acelerado	60
Cuadro 6: Porcentaje de germinación de la prueba de envejecimiento acelerado	61
Cuadro 7: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de envejecimiento acelerado	62
Cuadro 8: Porcentaje de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba en campo	62
Cuadro 9: Promedio de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba de campo	63
Cuadro 10: Porcentaje de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba de bandejas	63
Cuadro 11: Promedio de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba de bandejas.....	63

Cuadro 12: Promedio general de los resultados de los lotes A y B en base a todas las pruebas realizadas	64
Cuadro 13: Promedio de los resultados de las pruebas del lote A	64
Cuadro 14: Promedio de los resultados de las pruebas del lote B	66
Cuadro 15: Promedio de los resultados de germinación de las pruebas realizadas en laboratorio P1, P2 y P3	67
Cuadro 16: Promedio de los resultados de emergencia de las pruebas realizadas en campo P4 y P5	68
Cuadro 17: Promedio de los resultados de todas las pruebas del lote A y B.....	69
Cuadro 18: Promedio de los resultados de germinación estándar, pruebas de vigor y las pruebas realizadas en campo, comparadas entre ambos lotes	71
Cuadro 19: Coeficientes de correlación entre las pruebas de laboratorio y de campo.....	72
Cuadro 20: Coeficientes de determinación entre las pruebas de laboratorio y de campo	74

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1: Plántulas de maíz con defectos en el sistema radicular	39
Figura 2: Plántulas de maíz con defectos en el coleóptilo	42
Figura 3: Plántulas de maíz con defectos en la hoja primaria.....	43
Figura 4: Las medias de las pruebas en el lote A.....	65
Figura 5: Las medias de las pruebas en el lote B	66
Figura 6: Las medias de las pruebas P1, P2 y P3	68
Figura 7: Las medias de las pruebas P4 y P5.....	69
Figura 8: Las medias de todas las pruebas.....	70
Figura 9: Variabilidad de los resultados de germinación de cada prueba	70

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁG.
Anexo 1: Análisis de varianza	81
Anexo 2: Análisis de varianza entre lotes	81
Anexo 3: Análisis de varianza entre pruebas del lote A	82
Anexo 4: Análisis de varianza entre pruebas del lote B.....	83
Anexo 5: Análisis de varianza entre pruebas de laboratorio	83
Anexo 6: Análisis de varianza entre pruebas de campo.....	84
Anexo 7: Análisis de varianza entre las pruebas de germinación estándar	86
Anexo 8: Análisis de varianza entre las pruebas de frío	86
Anexo 9: Análisis de varianza entre las pruebas de envejecimiento acelerado	87
Anexo 10: Análisis de varianza entre las pruebas en campo.....	87
Anexo 11: Análisis de varianza entre las pruebas en bandejas	88
Anexo 12: Resultados de medias	89
Anexo 13: Coeficientes de correlación	90

RESUMEN

En este trabajo de investigación se utilizaron dos lotes de maíz amarillo duro híbrido DK-7088, TUH00832 y 3C2AE974C, con el fin de identificar las diferencias de vigor entre ellos, determinar cuál de las dos pruebas de vigor realizadas detecta mejor la diferencia de calidad entre los lotes, y establecer la correlación que hay entre los resultados de las pruebas de laboratorio con los de la emergencia en campo. Por esta razón, se evaluó la germinación de los lotes con las pruebas estándar, de frío, envejecimiento acelerado y la emergencia en campo mediante la siembra en suelo y en bandejas. En todos los casos se llevó a cabo una clasificación de plántulas, donde se consideró como vigorosas a las plántulas normales usando como criterio de clasificación lo establecido por ISTA (2016). Con los resultados de la prueba de germinación estándar, de las dos pruebas de vigor y de la prueba en campo se pudo clasificar a los dos lotes según su calidad, además con el análisis estadístico de estas pruebas, se detectó diferencias significativas entre ambos lotes. De esta manera, se determinó que el lote TUH00832 mostró mayor vigor que el lote 3C2AE974C debido a que obtuvo un mayor porcentaje de plántulas normales en todas las pruebas. Asimismo, la prueba que mejor se correlacionó con la emergencia de semillas en campo fue la prueba de envejecimiento acelerado.

Palabras claves: Maíz amarillo duro híbrido, vigor, germinación, emergencia, plántulas normales.

ABSTRACT

This work has been done with two lots of hard yellow hybrid corn, TUH00832 and 3C2AE974C, to identify the differences between their vigor and determine which of the tests performed compares vigor between lots and establish the correlation between the results of the laboratory tests and field emergency. For this reason, the lots were subjected to the tests of the standard germination, cold test, accelerated aging, and emergence in the field by planting in soil and in trays. In all cases, a seedling classification was carried out, where normal seedlings were considered as vigorous, using as established by ISTA (2016). The results of standard germination, the two vigor tests and the field test allowed to classify the two lots according their quality, also the statistical analysis of these tests showed significant differences between both lots. TUH00832 lot had greater vigor than 3C2AE974C lot because it obtained a higher percentage of normal seedlings in all tests. Additional, the accelerated aging test correlated better ($R^2= 0.734$) with the emergence of seeds in the field than the cold test.

Key Words: Yellow hard hybrid corn, vigor, germination, emergence, normal seedlings.

I. INTRODUCCIÓN

La semilla es el comienzo para la producción de cultivos y el primer factor que interviene para una buena siembra y cosecha. La semilla de buena calidad representa el insumo por excelencia que permitirá sustentar las actividades agrícolas, además de contribuir en gran parte a mejorar la producción en términos de calidad y rentabilidad del cultivo, el cual se ve afectado por el uso de semilla de mala calidad.

Los primeros problemas que se le presentan al productor y que conllevan a dificultades durante la siembra y cosecha de un cultivo, comienzan al no saber determinar los defectos incorporados en la semilla, tales como bajo poder germinativo, daño mecánico, bajo vigor, la impureza de los lotes de semillas y la presencia de patógenos como hongos, bacterias, virus etc. Asimismo, existen variedades que no están adaptadas a determinadas zonas de siembra y que, al ser cultivadas no germinan o presentan bajo rendimiento. Por estas razones, los trabajos orientados a determinar el potencial de semillas para una rápida y uniforme emergencia, seguido de una buena evaluación del desarrollo de plántulas normales, bajo las diferentes condiciones de campo, son de gran importancia para la agricultura.

Por esto es necesario aplicar métodos prácticos, sencillos y económicos que permitan verificar la calidad de la semilla, planificar la siembra y reducir los riesgos de una mala producción de cultivos.

Entre los granos más importantes a nivel mundial están los cereales, los cuales son usados por el ser humano sea de forma directa o indirecta como insumos de la producción pecuaria, por lo que su producción es esencial. El maíz (*Zea mays* L.) forma parte de los cereales más cultivados en el Perú, donde se siembra 300 mil hectáreas de maíz amarillo duro, las cuales producen alrededor de 1.5 millones de toneladas al año (Agraria.pe, 2015). Para garantizar la demanda interna de este producto se necesita producir alrededor de 4 millones de toneladas, pero al no cumplir con dicha demanda el sector avícola, quien es el mayor consumidor de dicho producto, debe importar el 70% del maíz amarillo duro

(Agraria.pe, 2015) de países como Estados Unidos, Argentina, Brasil, entre otros (MINAGRI, 2018).

Las semillas de maíz presentan problemas de calidad probablemente por su constitución genética (híbridos), por las condiciones ambientales durante su periodo de desarrollo en la planta madre, por condiciones de su almacenamiento, etc. Todo esto podría causar diferencias de vigor entre lotes de semillas o dentro de un mismo lote.

Frente a esta situación, tanto las industrias productoras de semillas como los pequeños agricultores podrían conseguir grandes beneficios al someter los lotes de semillas a pruebas de vigor.

1.1. JUSTIFICACIÓN

Las pruebas de germinación en semillas de maíz muchas veces no reflejan el verdadero poder germinativo de las semillas en condiciones reales de campo, por lo que las empresas que solicitan pruebas para medir la calidad, exigen ensayos más adecuados. Si bien la evaluación de la germinación se ha considerado como uno de los aspectos más importantes que debe ser evaluado para determinar la calidad de un lote de semillas, es insuficiente para clasificarlos, por ello ha sido necesario complementar los resultados de la prueba de germinación con otras evaluaciones como las pruebas de vigor. Estas pruebas establecen el comportamiento de las semillas a través de diversas propiedades, tales como la performance bajo condiciones adversas y la habilidad de germinar después del almacenamiento.

En el Perú, el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) realiza un control que asegura la calidad genética, sanitaria, fisiológica y física de semillas con la finalidad de supervisar la producción y comercialización de estas (Diario Gestión, 2017). Al tener información sobre la calidad de un lote de semillas será posible demostrar el valor de ellas con mayor exactitud (Diario Gestión, 2017), estimar con mayor precisión el valor de las semillas en campo a diferencia de contar sólo con el resultado de germinación y asegurar al productor el valor real de las semillas desde el punto de vista fisiológico. Bajo este criterio,

las pruebas de vigor, realizadas por institutos como INIA y otros laboratorios, asumen un rol preponderante en la composición de programas de calidad de semillas. Si bien hasta el momento no existe una prueba universal para evaluar el vigor de semillas en general, se requiere de un control riguroso de variables para que los procedimientos sean debidamente normados y posibiliten la obtención de información segura.

Por otro lado, respecto a las importaciones peruanas de semillas, el Gerente General de la Asociación Peruana de Productores e Importadores de Semillas (Appisemillas), Óscar de Córdova (Diario El Comercio, 2016), señala que el costo de estas importaciones podría elevarse entre un 8 y 10 por ciento debido a las disposiciones emitidas por el Ministerio del Ambiente (MINAM) para el control del ingreso de los organismos vivos modificados (OVM) al país, motivo por el cual se originaría un desabastecimiento de semilla de alta calidad biológica y tecnológica, como los híbridos del maíz.

Frente a esto, Appisemillas (Diario El Comercio, 2016) señaló que, en el Perú, el 82 por ciento de las semillas de calidad en maíz, alfalfa, hortalizas y especies forrajeras de clima templado y tropical son importadas, por lo que es necesario mejorar la producción de semillas de maíz amarillo duro en el Perú.

Asimismo, la cantidad de semilla importada de maíz amarillo duro durante el año 2016 fue de 2 466,87 toneladas, lo cual es 6,2 por ciento menos de lo importado en el 2015. Más de las dos terceras partes de estas semillas importadas son desarrolladas por Monsanto a través de sus híbridos Dekalb, semillas no convencionales (no OVM), que provienen de México, un país donde no se cultiva maíz transgénico (MINAM, 2017).

El MINAM (2017) también informa que los principales países de donde se importa maíz amarillo duro al Perú son Estados Unidos, Argentina y Brasil.

1.2. ALCANCE DEL ESTUDIO

La investigación ha sido cuantitativa de tipo correlacional.

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Determinar cuál de las dos pruebas de vigor realizadas es la más adecuada para medir la calidad de las semillas de dos lotes de maíz híbrido DK-7088.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el comportamiento de dos lotes de semillas de maíz a través de la prueba de frío y de envejecimiento acelerado.
- Correlacionar los resultados de germinación de las pruebas de vigor con los resultados de emergencia de las pruebas en campo y en bandejas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La semilla tiene la función de perpetuar la especie a la que pertenece, por lo tanto, es un elemento eficaz para que dicha especie se multiplique y disperse durante el tiempo.

En todo cultivo es imprescindible tener en cuenta la calidad de la semilla para su éxito, ya que las semillas son el punto de partida para la producción y es indispensable que tenga una buena respuesta en las condiciones de siembra y que produzca plántulas vigorosas para alcanzar el máximo rendimiento (Doria, 2010). Desde un punto de vista sustentable, es necesario tener semilla de calidad para obtener una buena cosecha.

Muchas veces una semilla de buena calidad es considerada aquella que puede germinar y que se encuentra libre de organismos patógenos como bacterias, hongos o virus; sin embargo, el concepto es más amplio y multidimensional, ya que está conformado por varios factores, entre los cuales se incluyen los siguientes principales parámetros (Thomson citado por Peretti, 1994):

- Pureza botánica
- Pureza genética
- Poder germinativo
- Vigor de las semillas
- Dormición
- Homogeneidad del lote
- Estado fitosanitario
- Contenido de humedad

Considerando estos factores, Peretti (1994) señala que una semilla de calidad debe ser de la misma especie y cultivar deseado, debe ser una semilla pura o libre de material inerte u otras semillas; no puede presentar dormición o en caso se presente, este estado debe poder

revertirse naturalmente; el estado de germinación de la semilla debe ser elevado al igual que su estado sanitario; de fácil conservación, es decir bajo contenido en agua; y además, esta semilla debe ser capaz de adaptarse de manera fácil a las condiciones edáficas y climáticas de la zona a la que se destina.

Según Peretti (1994), los criterios de calidad mencionados son de naturaleza diversa y es por ello que no es posible establecerse un orden o prioridad entre ellos. Asimismo, dice que la calidad de las semillas se regirá en función a todas las características enunciadas, y que serán las condiciones del cultivo las que determinarán una mayor o menor contribución entre ellas.

Es posible mencionar algunas condiciones que describen de forma más concisa y que a la vez, engloban los factores mencionados sobre la calidad de una semilla (ISTA, 1995):

- La capacidad del lote de semillas para producir plántulas normales.
- Potencial de emergencia y uniformidad en el campo.
- Potencial de almacenamiento

2.1. PUREZA

Las semillas se consideran limpias cuando pertenecen a la especie en cuestión indicada por el solicitante, o como el predominante en la muestra. Además, se deben incluir todas las variedades botánicas y cultivares de la especie (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009).

Autores como McDonald y Copeland citados por Barros (2003) mencionan que lo ideal es que el 100 por ciento de un lote de semillas que se comercializa sea del cultivar elegido, pero que en muchos casos existen contaminantes presentes en los lotes adquiridos. Por ello, existen formas para medir la cantidad de estos contaminantes, tales como la pureza física, método que ayuda a establecer el porcentaje de semillas que efectivamente corresponden al cultivar en cuestión, a otras especies, a malezas y a materia inerte.

De igual modo, se evalúa también la pureza genética del lote, que es una medida de la cantidad de semillas compradas que poseen la misma composición genética que el cultivar elegido.

2.2. GERMINACIÓN

La germinación es el desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables. Asimismo, según ISTA (2016), la germinación es la aparición y desarrollo de la plántula hasta una etapa donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no capaz de desarrollarse más en una planta satisfactoria en condiciones favorables en el campo.

La germinación incorpora aquellos eventos que se inician con la absorción de agua por la semilla seca y terminan con la elongación del eje embrionario. El proceso concluye cuando la radícula penetra y atraviesa las estructuras que rodean al embrión, lo que frecuentemente se conoce como germinación visible (Herrera et al., 2006).

2.2.1. LA REGLA DEL 50 POR CIENTO

Esta regla es usada para evaluar cotiledones y hojas primarias. En ambos casos, los tejidos deben ser funcionales en un 50 por ciento o más del total. No pueden estar ausentes, deteriorados o decolorados en un 50 por ciento o más (ISTA, 2016).

2.2.2. GERMINACIÓN ESTÁNDAR

Existen críticas sobre el análisis de germinación estándar, debido a las condiciones artificiales, óptimas y controladas bajo las cuales se realiza, mediante métodos orientados a obtener el máximo de la potencialidad germinativa de las semillas. Por este motivo, los resultados de los ensayos de germinación se correlacionan con la emergencia a campo

únicamente cuando se siembran las semillas bajo condiciones ambientales favorables. Sin embargo, las condiciones óptimas preparadas en laboratorio, no son siempre las que se presentan en el campo. Es por esta razón que la cantidad de semillas que produce plántulas en el campo suele ser menor al poder germinativo que se registra en el laboratorio (Peretti, 1994).

Lo que indica ISTA (2016) es que para que una plántula consiga un posterior desarrollo satisfactorio, debe contar con una combinación específica de las siguientes estructuras esenciales, según su especie:

- Sistema radicular (raíz primaria, en ciertos casos raíces seminales)
- Eje del brote (hipocótilo, epicotilo, en ciertas *Poaceae [Graminae]* mesocotilo; yema terminal)
- Cotiledones (uno o varios)
- Coleóptilo (en todas las *Poaceae [Graminae]*)

El objetivo de realizar una prueba de germinación es evaluar la capacidad de las semillas de producir plantas normales y vigorosas, bajo condiciones favorables. Los resultados de la prueba de germinación indican el porcentaje de semillas que generan plantas normales, dentro de un tiempo establecido para cada cultivo (INTA, 2013).

2.3. CALIDAD DE SEMILLAS

El control de calidad de semillas puede definirse como enfoque sistemático para alcanzar y/o mantener estándares de calidad establecidos para las semillas de una determinada especie vegetal.

Se puede decir que la calidad en semillas es un término que involucra cuatro componentes (Soplin y Beingolea, 1986).

- Físico: la calidad de la semilla, desde este punto de vista, es medida mediante la prueba de pureza, la cual indica la composición del lote de semilla y la identidad de sus componentes.
- Fisiológico: en este caso, se expresa la capacidad de la semilla para funcionar como tal y este aspecto es medido a través del poder germinativo y el vigor.
- Fitosanitario: indica la sanidad de la semilla o su condición de presentarse libre de patógenos. Es necesario realizar exámenes en el laboratorio o pruebas de campo, así como la certificación de la semilla.
- Genética: se mide la identidad y pureza genética de la semilla. Se hace un control de genealogía en las etapas de multiplicación, lo que constituye la certificación de la semilla.

En términos generales se puede hablar de tres tipos de sistemas para el control de calidad (Soplin y Beingolea, 1986).

- Control total previo al mercadeo: constituye la esencia de la certificación de semillas y se realiza antes que la semilla llegue al mercado.
- Control en el mercadeo: se efectúa cuando la semilla está en el mercado. Sólo se requiere el etiquetado y que en la etiqueta se incluya cierta información verdadera.
- Control oficial nulo o limitado previo al mercadeo: corresponde al control interno de calidad que realizan las empresas semilleristas.
- El análisis de semillas en un programa de control de calidad: desarrollado como un medio de minimizar los riesgos que se corren al sembrar semilla de baja calidad.

Existen técnicas para el análisis de calidad de semillas, como las pruebas de vigor. Es así que las semillas que muestran buena performance se consideran como de alto vigor, mientras que las que muestran una pobre performance se consideran de bajo vigor (Soplin y Beingolea, 1986).

2.4. SEMILLA CERTIFICADA

La semilla certificada es obtenida a partir de la semilla genética o semilla registrada, que ha pasado por el proceso de verificación de su identidad, producción, acondicionamiento y la calidad, en conformidad con lo establecido por la Ley, con el propósito de asegurar a los usuarios la pureza e identidad genética, calidad fisiológica, calidad sanitaria y calidad física de las semillas (Beingolea, 2015).

2.5. SEMILLA COMERCIAL

Es la semilla que muestra conformidad con determinada especie y que ha sido admitida como semilla comercial. Dicha admisión o licencia presupone que la semilla cumpla los requisitos establecidos. Las semillas comerciales se puede establecer normas semejantes a las indicadas para las semillas de base y certificadas (FAO, 1979).

2.6. VIGOR

El vigor de una semilla abarca todas las propiedades que posee la misma semilla o un lote de ellas, y mediante las cuales se puede determinar un potencial de emergencia rápido y uniforme, así como el desarrollo de plántulas normales bajo diferentes condiciones de campo (CIMMYT, 1998).

En 1950, ISTA constituyó un Comité de Ensayos de Vigor, por medio del cual se encontró consenso para la definición de vigor de las semillas. Dicho comité, señaló que el vigor implica el total de las propiedades que determinan el potencial de actividad y de performance de una semilla o de un lote de ellas durante la germinación y emergencia de plántulas. Según el comportamiento de estas semillas, serán consideradas con un “alto vigor” o “bajo vigor” según su buen o mal comportamiento, respectivamente.

Por tanto, el vigor no es una sola propiedad medible, sino que abarca varias características relacionadas con varios aspectos del rendimiento del lote de semillas, como velocidad y uniformidad de la germinación de las semillas, junto con el crecimiento de las plántulas y la

emergencia de semillas en condiciones favorable; además del rendimiento de las semillas después de su almacenamiento. Particularmente se considera la retención de la capacidad de germinar de estas (ISTA, 2016).

2.6.1. OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS DE VIGOR

Las pruebas de vigor son una herramienta cada vez más rutinaria en la industria de las semillas para determinar la calidad fisiológica de estas y evaluar o detectar diferencias significativas en su calidad.

Los objetivos de la prueba de vigor serán diferentes para sus distintas aplicaciones; sin embargo, se han establecido algunos (ISTA, 1995):

- Proporcionar un índice de calidad de semillas más sensible que con una prueba de germinación.
- Proporcionar una clasificación consistente de los lotes de semillas en términos de sus rendimientos potenciales y así distinguir los lotes de alto y bajo vigor.
- Ser una prueba rápida, objetiva, simple y económicamente práctica que determine el vigor de las semillas.
- Ser una prueba reproducible e interpretable, que muestre resultados acerca de la calidad fisiológica de lotes de semillas que presentan germinación similar.

Una prueba de vigor debe presentar una base teórica consistente, además de métodos numéricos. Su base depende sobre todo del principio que guíe su metodología; sin embargo, hay otras características propias de cada prueba que también se deben considerar, tales como: simplicidad, rapidez, bajo costo, objetividad, resultados relacionados con la emergencia de las plántulas en el campo y reproducibilidad (Filho, 1999).

Asimismo, una prueba de vigor evalúa la base fisiológica del rendimiento potencial del lote de semillas en una gran variedad de ambientes y brinda una mejor diferenciación entre los lotes de semillas de germinación aceptable, a diferencia de la prueba de germinación.

Según Perry (1981), una forma de clasificar las pruebas de vigor es en directas e indirectas:

2.6.2. PRUEBAS DE VIGOR DIRECTAS

Son aquellas que se llevan a cabo en un laboratorio. Los factores de estrés que se espera encontrar en el campo y que reducen la emergencia de las plántulas son reproducidos en el laboratorio, bajo condiciones controladas.

Por otro lado, existen críticas sobre estas pruebas ya que no muestran diferencias de calidad cuando las semillas son expuestas a condiciones favorables de suelo (Copeland y McDonald, 2001).

Algunos ejemplos de pruebas directas son:

a. PRUEBA DE HILTNER

De acuerdo con lo mencionado por Peretti (1994), esta prueba requiere el sometimiento de las semillas a efectos de estrés hídrico y de resistencia mecánica a la emergencia. Inicialmente, fue un método desarrollado para detectar semillas de cereales infectadas con *Fusarium* spp.; sin embargo, ha resultado válido también para detectar la presencia de *Septoria* spp. y *Drechslera* spp., además de poner en manifiesto la disminución de la viabilidad de los granos a causa de agentes físicos (frío), químicos (exceso de fungicidas), desgrane o germinación anticipada.

En caso de probarla en trigo y cebada, se debe usar como sustrato, partículas de ladrillo triturado, tamizadas, lavadas, esterilizadas y embebidas en agua. En la base, al fondo de una caja se pone una capa de este sustrato, sobre ella se ordenan las semillas y se recubren con otra capa de la misma grava humedecida. Luego esta caja se cierra y se guarda en una cámara de germinación a 20°C por 10 a 14 días, en un lugar donde no incida la luz (Peretti, 1994).

Las condiciones de temperatura y días para la evaluación variarán según el cultivo.

Perry citado por Barros (2003) dice que el porcentaje de plántulas normales, emergidas de cada lote indicará cuál de ellos es el de mayor vigor. La correlación que existe entre el resultado de esta prueba con la emergencia de campo ha resultado buena en algunos casos como en maíz, mostaza, espinaca, algodón y leguminosas; sin embargo, se han dado resultados insatisfactorios en los casos de remolacha y zanahoria. Además, existe una relativa complejidad operativa en esta prueba, motivo por lo que es poco funcional.

b. PRUEBA DE FRÍO

Esta prueba fue inicialmente llevada a cabo para evaluar los efectos de tratamientos de semillas con fungicidas (Do Rego *et al.*, 1999). Debido al diferente comportamiento de los diferentes lotes sometidos a la prueba, se comenzó a considerar como una prueba de vigor, la cual es probablemente una de las más estudiadas, la más aceptada y que empezó siendo adaptada para el estudio de vigor en semilla de maíz (Moure, 1999). Peretti (1994) señala que los resultados obtenidos de esta prueba en especies como maíz y soya han mostrado una buena correlación con la emergencia en el campo.

La prueba de frío también ha sido adaptada a otros cultivos como soya, sorgo, zanahoria, remolacha, cebolla y girasol (Peretti, 1994).

Se evalúa el efecto combinado de una serie de factores, como la capacidad de germinación de las semillas en suelos húmedos y fríos, la cual se ve afectada por la herencia genética (Do Rego *et al.*, 1999), por la incidencia de daños mecánicos, debido a los tratamientos usados y por las condiciones fisiológicas de la semilla (Do Rego *et al.*, 1999). También pueden considerarse otros probables factores, en el caso de maíz tales como el tamaño de la semilla y la posición relativa de la semilla en la mazorca (Do Rego *et al.*, 1999).

El principio básico de la prueba es la exposición de las semillas a factores adversos de baja temperatura, alta humedad del sustrato y, en el caso de utilización de suelo, cuyo origen es de un área donde se cultiva la especie, también a agentes patógenos. En estas condiciones la probabilidad de sobrevivencia de las semillas vigorosas es mayor, donde la combinación de bajas temperaturas y alta humedad relativa puede provocar la reducción de la velocidad de

germinación, además de favorecer el desarrollo de microorganismos perjudiciales como *Phythium spp.* y *Gibberella zea* que son microorganismos predominantes en esas condiciones y responsables del deterioro de las semillas (Do Rego *et al.*, 1999).

En el caso de las semillas de maíz, se ponen en una caja de plástico, la cual debe contener tierra proveniente del campo en el que normalmente se siembra el cultivo. Esta caja se cierra y se guarda en una cámara a 10°C. Después se llevan a una cámara de germinación a 25°C, en presencia de luz. Finalmente, los resultados obtenidos se expresan en porcentaje de plántulas normales emergidas (Peretti citado por Barros, 2003).

Las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo esta prueba en los diferentes cultivos, varían. Se considera un número diferente de semillas para evaluar, la temperatura a utilizar y los días de evaluación.

Asimismo, Peretti (1994) señala que existe un procedimiento alternativo, el cual consiste en sembrar las semillas sobre papel secante con suelo o sin suelo en vez de usar cajas de plástico. De esta manera se economiza la cantidad de suelo (en caso se use) y de espacio requerido para esta prueba, aumentando la eficiencia real del laboratorio. Bajo estas circunstancias las implicancias de llevar a cabo la prueba de frío en bandejas comparada con la prueba de frío modificada serán diferentes.

Según Bruggink citado por Peretti (1994), en caso de una prueba de frío modificada se presentarán condiciones de temperatura y tiempo de trabajo distintas, siendo importante también acotar que este tratamiento correlaciona mejor con la emergencia a campo en semillas no curadas que en semillas curadas con fungicidas, ya que al hacer uso de estos productos se está eliminando uno de los parámetros que intervienen en esta prueba sometida a condiciones de estrés, que es la presencia de patógenos. Además, al aplicar los fungicidas se deben considerar otros factores tales como la dosis que se aplica, el tipo de principio activo utilizado y la variación del contenido de humedad del suelo (a mayor humedad, más fungicida se disuelve en el medio e inhibe la actividad de los microorganismos de las semillas).

Habrán dos modificaciones de la prueba de frío, según señala Peretti (1994):

- Prueba de frío con rollos de papel + suelo (método de Viena)

Procedimiento alterno aplicado inicialmente a maíz. En esta metodología se siembran las semillas en rollos de papel secante y suelo proveniente de un campo cultivado con la misma especie que se está analizando, procediendo con el ajuste de la humedad recomendada (Peretti, 1994).

Esta prueba ha revelado ser satisfactoria para detectar vigor también en sorgo, arvejas y habas.

- Prueba de frío con rollos de papel sin suelo

La influencia del factor suelo y su variación según las áreas agroecológicas son un obstáculo para la estandarización del método. Es por esta razón que se busca desarrollar técnicas con compost o directamente con un medio inerte como vermiculita, para evaluar como único factor ambiental adverso la baja temperatura (Peretti, 1994).

Según indica el autor Craviotto *et al.* citados por Peretti (1994) y Do Rego *et al.* (1999) al aplicar esta metodología en maíz se demostró la correlación con la emergencia a campo y las diferencias no significativas con los resultados del test de frío en bandejas con suelo y con rollos de suelo.

2.6.3. PRUEBAS DE VIGOR INDIRECTAS

Este tipo de pruebas miden en el laboratorio las características fisiológicas de la semilla, relacionadas con su comportamiento en el campo (Perry, 1981).

Algunos ejemplos de pruebas indirectas:

a. PRIMER CONTEO DE LA PRUEBA DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR

Peretti (1994) menciona que, en una prueba de germinación estándar, se considera una lectura final que dará cuenta de las plántulas normales desarrolladas y una lectura inicial

que informa sobre las semillas que han reanudado de forma más rápida las actividades metabólicas y de crecimiento propias de la germinación, pudiendo ser interpretado este dato como una expresión de vigor. A la vez, cabe señalar que la velocidad de germinación es un atributo que abarca más, ya que se calcula en función al número de semillas que germinan a lo largo de periodos determinados.

En el primer conteo de una prueba de germinación estándar se obtiene el porcentaje de plántulas normales que han germinado más rápido, dato que puede ser usado como un índice de vigor (Copeland y McDonald citado por Barros, 2003).

El tiempo del primer conteo es aproximado, pero debe ser suficiente para permitir que las plántulas alcancen una etapa de desarrollo que permita una evaluación precisa. Asimismo, para ensayos en arena, medio de cultivo orgánico o suelo que dure no más de siete a diez días, se puede omitir el primer recuento (ISTA, 2016).

Los recuentos intermedios son recomendados, en caso haya plántulas que deban ser eliminadas para facilitar el conteo y evitar que afecten el desarrollo de otras plántulas. El número y fecha de los conteos intermedios pueden realizarse según el criterio del analista, pero debe ser mínimo para reducir el riesgo de dañar cualquier plántula que no esté suficientemente desarrollada (ISTA, 2016).

En caso las muestras se prueben en papel, las semillas no germinadas o las plántulas que requieren tiempo adicional para alcanzar la etapa de desarrollo necesaria para una evaluación exacta, pueden ser transferidas al sustrato fresco en recuentos intermedios. Al realizarlo, se debe tener cuidado de asegurar la integridad de las réplicas y evitar daños a las semillas y plántulas transferidas (ISTA, 2016).

Esta prueba es rápida, económica, simple y de fácil interpretación; sin embargo, hay pocos estudios que avalen su uso como una prueba de vigor en los cultivos (Barros, 2003).

b. ENSAYO DE CONDUCTIVIDAD

Lo que menciona Peretti (1994) es que el vigor de las semillas se estudia midiendo la cantidad de iones que liberan sus células. La organización molecular de las membranas sufre cambios durante el proceso de deshidratación por el que pasa la semilla hasta lograr su madurez fisiológica. Al comienzo de la germinación, la estructura de la membrana se reconstituye y su recuperada integridad permite que se lleve a cabo la permeabilidad selectiva de sustancias, iones y solutos hacia y desde la célula.

Las semillas más vigorosas son aquellas que probablemente recomponen sus membranas celulares de forma más rápida que las de menor vigor, motivo por el que liberan menos electrolitos al ser sumergidas en un medio acuoso. De esta manera, los solutos lixiviados en el agua pueden ser medidos con un medidor de conductividad eléctrica (Fay *et al.* citado por Peretti, 1994).

Perry citado por Peretti (1994) dice que se ha demostrado que en lotes de semillas con aceptable nivel de poder germinativo (superior a 80 por ciento), las semillas que ceden grandes cantidades de electrolitos al agua emergen pobremente en el campo.

Se ha establecido la correlación entre los resultados de este ensayo y la emergencia en campo de maíz, soya, arveja, cebada, poroto y arroz.

Las ventajas de esta prueba, según ISTA (1995) son las siguientes:

- Es el ensayo con menos riesgo de interpretación subjetiva además de ser el más promisorio entre las pruebas bioquímicas.
- Es una prueba que permite conocer de forma rápida y objetiva el vigor de la mayoría de semillas.
- Los gastos en equipo y entrenamiento personal son mínimos.
- Los resultados de conductividad han proporcionado correlaciones más altas con la emergencia de campo que la germinación estándar para muchas legumbres grandes sembradas.

- Tanto los comités de la AOSA (Association of Official Seed Analysts), como el Comité de Vigor de la ISTA (International Seed Testing Association) señalan que los resultados obtenidos mediante la prueba son confiables, reproducibles en laboratorios y correlacionados con la emergencia de campo.

En cambio, las desventajas de esta prueba son las que se mencionan a continuación:

- Los resultados de esta prueba se basan en que todas las semillas están deterioradas en un mismo grado, por lo que eliminan la misma cantidad de electrolitos al medio. No obstante, cada semilla de un lote no tiene el mismo potencial de comportamiento en el campo (ISTA, 1995).
- Existen varios factores, propios de cada semilla, que influyen en la tasa de solutos que esta entrega al medio, como el grado de daño a nivel morfológico, la humedad inicial, la edad, el ataque de los microorganismos del suelo, entre otros.
- La conductividad puede modificar los resultados de predicción, por lo que resultaría siendo una prueba difícil de interpretar (Barros, 2003).
- Existe una gran dificultad para distinguir las semillas latentes de las que tienen dificultad para germinar (Durán *et al.* citado por Barros, 2003).
- La aplicación a las semillas de determinados compuestos, tales como fungicidas pueden impedir o dificultar el uso de la prueba (Durán *et al.* citado por Barros, 2003).
- Una limitación de la prueba de conductividad, es que los resultados clasifican los lotes de semilla en calidad usando ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$), que no son fácilmente interpretados por los agricultores. Esto ha sido superado en el Reino Unido mediante el desarrollo de cuatro niveles de vigor que se relacionan con el rendimiento en el campo. Parece que también podría desarrollarse un sistema similar para otros cultivos (ISTA, 1995).

c. PRUEBA CON TETRAZOLIO

La prueba de tetrazolio es un análisis bioquímico basado en la actividad de las enzimas deshidrogenasas, las cuales catalizan reacciones en la mitocondria respiratoria durante la glucólisis y el ciclo de Krebs (Franca, 1999). Esta prueba permite determinar rápidamente la viabilidad de las semillas además de ser una referencia de su poder germinativo.

El cloruro o bromuro de tetrazolio es una sal, soluble en agua e incolora, la cual es absorbida por las semillas y difundida a través de sus tejidos, produciendo en las células vivas una reacción de reducción que resulta en la formación de un compuesto de color rojo, estable y no difusible que permanece en las células donde se formó (Franca, 1999).

Peretti (1994) menciona que la coloración proveniente de la reacción por causa del tetrazolio es una indicación positiva de la viabilidad de la semilla mediante la detección de la respiración a nivel celular. Los tejidos no viables no reaccionan; es decir, las células muertas permanecen incoloras, mientras que aquellas células que respiran débilmente o están enfermas presentan una coloración rosada.

Asimismo, la coloración que presentan las semillas, como un indicador de su viabilidad, considera aspectos como el grado de intensidad de la coloración de los tejidos de la semilla, el tamaño de la región coloreada en la semilla y la existencia o falta de manchas irregularmente distribuidas en la semilla.

Las ventajas de esta prueba, según Franca (1999) son las siguientes:

- Los resultados se centran en las condiciones propias de cada semilla.
- Permite una rápida evaluación de viabilidad y vigor de las semillas.
- Permite la identificación de los diferentes niveles de viabilidad de las semillas.
- El equipo necesario es simple y de bajo costo.

En cambio, las desventajas de esta prueba, según Franca (1999) son las que se mencionan a continuación:

- Se requiere estudios sobre la estructura embrionaria de la semilla y conocer las técnicas de su interpretación.
- Es relativamente tediosa, ya que las semillas deben ser evaluadas una por una, lo cual requiere experiencia y paciencia.
- Aunque es una prueba rápida, se requiere un mayor número de horas-hombre que la prueba de germinación estándar.
- No muestra la efectividad del tratamiento químico o las posibles lesiones que cause.

d. PRUEBA DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Para realizar esta prueba, las semillas son sometidas a temperaturas altas y humedad relativa cercana al 100 por ciento, por un periodo de tiempo, antes de llevarse a cabo una prueba de germinación estándar (Peretti, 1994).

La germinación de la semilla antes del envejecimiento acelerado es comparada con su germinación después del tratamiento, es así que la pérdida de capacidad germinativa se cuantifica (Filho, 1999).

En general, el objetivo básico de las pruebas de vigor es poder identificar entre los lotes, las diferencias significativas en la calidad fisiológica de las semillas. Se busca conocer también, la capacidad de almacenamiento que presentan los lotes de semillas y que pone en manifiesto la correlación que existe entre la germinación posterior al envejecimiento y la emergencia en campo bajo condiciones desfavorables (Peretti, 1994).

Las temperaturas altas y mucha humedad relativa son condiciones inadecuadas para la conservación de la viabilidad de las semillas, que provocan la aceleración de su envejecimiento además de la pérdida de su calidad interna. Esto se expresa mediante una menor tasa de germinación, una mayor producción de plántulas anormales y la desuniformidad de los lotes (Copeland y McDonald citados por Peretti, 1994).

Cuando las semillas están a temperaturas mayores a 35°C pueden deshidratarse y presentar rupturas en sus células al volver a ser hidratadas. Esto sucede porque las altas temperaturas disminuyen la fuerza de los puentes de hidrógeno y de las interacciones electrostáticas que hay entre la membrana celular y las proteínas; al mismo tiempo que aumenta la fluidez de los lípidos que la constituyen, provocando cambios en la composición y estructura de la misma membrana, causando fugas de iones y la inhibición de procesos fisiológicos como la respiración y fotosíntesis (Taiz y Zeiger citados por Peretti, 1994).

El deterioro que sufre la semilla podría estar asociado a la pérdida de la capacidad de almacenamiento y una menor resistencia a las enfermedades infecciosas, debido a los daños que sufren las células, que a su vez provocan en ellas la producción de compuestos que favorecen el desarrollo de patógenos (Salisbury y Ross citados por Perry, 1994).

Además, el envejecimiento puede provocar daño en la cromatina, lo que implica un aumento en la aparición de malformaciones en las plántulas (Besnier citado por Peretti, 1994).

Por otro lado, las semillas que se comercializan con un tratamiento de fungicida(s) pueden someterse a esta prueba, aunque lo ideal es que las semillas a envejecer no sean tratadas con fungicida(s), según ISTA (2016). Para el caso de soya (Filho, 1999) se menciona que si bien es cierto que en los trabajos realizados con este cultivo, las semillas tratadas muestran mayor porcentaje de germinación, el uso de fungicidas no promueve grandes modificaciones en la información sobre su potencial fisiológico tras la prueba de envejecimiento acelerado.

Cabe señalar que hongos como *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mucor* spp, comúnmente contaminan los lotes de semillas, debido a que las condiciones bajo las cuales son sometidas resultan siendo favorables para la proliferación de estos patógenos (Weng *et al* citado por Barros, 2003).

Es necesario seguir buscando y estudiando sobre la relación periodo de exposición/temperatura para esta prueba, ya que el principal obstáculo según Filho (1999) es la dificultad de mantener la uniformidad de la temperatura durante su realización.

Las ventajas de esta prueba, según Barros (2003) son las siguientes:

- La prueba de envejecimiento acelerado es una forma rápida, económica, simple y útil de medir el vigor de semillas en muchas especies.
- La evaluación de las semillas envejecidas se realizará según el criterio establecido por ISTA para germinación estándar, donde se dice que las semillas con vigor serán las que produzcan plántulas normales. De esta manera se considera un nivel alto de vigor cuando se obtienen valores de poder germinativo de 70-80 por ciento para maíz (Peretti, 1994).
- Mediante esta prueba se consigue un valor en porcentaje del lote de semillas, luego de evaluar individualmente semillas/plántulas. Esta información complementa los resultados de una prueba de germinación estándar.

En cambio, las desventajas de esta prueba, según Barros (2003) son las que se mencionan a continuación:

- Las condiciones de alta humedad a las que son sometidas las semillas favorecen la aparición de hongos. Esta situación dificulta la evaluación de los lotes (Wang *et al* citado por Barros, 2003).
- El tamaño de las semillas de un lote es diferente e impide una calificación adecuada, ya que, en el caso de las semillas pequeñas, estas consiguen un contenido de humedad máximo con menos tiempo de envejecimiento, lo cual reduce mucho más su germinación después del tratamiento y resulta en un gran deterioro (McDonald citado por Barros, 2003).

2.7. ENSAYOS DE GERMINACIÓN EN LABORATORIO

2.7.1. PLÁNTULAS NORMALES:

Según ISTA (2016), las plántulas normales son aquellas que muestran el potencial para desarrollarse en plantas de forma continua y satisfactoria, al ser cultivadas en suelos de buena calidad, y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz.

La plántula debe cumplir con una de las siguientes categorías para ser considerada como normal (ISTA, 2016):

- a. Plántulas intactas: aquellas que cuenten con todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas, proporcionadas y sanas.
- b. Plántulas con ligeros defectos: aquellas que muestren en sus estructuras esenciales ciertos defectos leves, pero que tengan un desarrollo satisfactorio y balanceado, que pueda ser comparado con el de las plántulas intactas del mismo ensayo.
- c. Plántulas con infección secundaria: aquellas que pudieron ubicarse en una de las categorías anteriores pero que han sido afectadas por hongos o bacterias de cualquier otra fuente que no sea la semilla de la cual procede.

Según la clasificación que señala ISTA (2016), una descripción más específica de las categorías en las que se encuentra una planta normal es la siguiente:

- a. Plántulas intactas

Un sistema radicular bien desarrollado, compuesto por:

- Una raíz primaria larga y esbelta, generalmente cubierta con numerosos pelos radiculares y que termina en una punta fina.
- Raíces secundarias cuando se producen dentro de la prueba prescrita.
- Varias raíces seminales en lugar de una raíz primaria en ciertos géneros, incluyendo *Avena*, *Hordeum*, *Secale*, *Triticum*, *Cyclamen*, *Triticosecale*.

Un eje de brote bien desarrollado, compuesto por:

- Un hipocótilo recto y generalmente esbelto y alargado en plántulas mostrando germinación epigea.
- Un epicotilo bien desarrollado en plántulas que muestran una germinación hipogea.
- Un hipocótilo alargado y en algunos géneros un epicotilo con germinación epigea.
- Mesocotilo alargado en ciertos géneros de las *Poaceae*.

Un número específico de cotiledones:

- Un cotiledón en monocotiledóneas o excepcionalmente en dicotiledóneas (puede ser verde y parecido a una hoja, o modificado y estar todo o parcialmente dentro de la semilla).
- Dos cotiledones en dicotiledóneas (en especies con germinación epigea: verde y parecido a una hoja, el tamaño y forma varía con la especie que se está probando; en plántulas con germinación hipogea: hemisférica y carnosa y que permanece dentro de la capa de la semilla).
- Un número variable de cotiledones (2-18) en coníferas (generalmente verdes, largas y estrechas).
- Verde, ampliando hojas primarias.
- Una hoja primaria, a veces precedida por unas cuantas hojas en escala en plántulas con hojas alternas.
- Dos hojas primarias en plántulas con hojas opuestas.

Un brote terminal o un ápice del brote, cuyo desarrollo varía según la especie con la que se está ensayando.

Un coleóptilo recto y bien desarrollado en *Poaceae*, que contiene una hoja verde que se extiende hasta la punta y que eventualmente emerge a través de ella.

En plántulas de especies arbóreas con germinación epigea; cuando la raíz primaria y el hipocotilo juntos exceden cuatro veces la longitud de la semilla, siempre que todas las estructuras que se hayan desarrollado estén intactas.

b. Plántulas con ligeros defectos

Los siguientes defectos son considerados leves y por lo tanto las plántulas se clasifican como normales:

- Raíz primaria con leve daño o ligero retardo en el crecimiento.
- Raíz defectuosa, pero con raíces secundarias suficientemente bien desarrolladas (en *Poaceae*, por ejemplo, *Zea*).
- Hipocótilo, epicotilo o mesocotilo con daños limitados.
- Cotiledones con daño limitado (el 50 por ciento o más del área total del tejido) o si no hay evidencia de daño o deterioro en el ápice del brote o en los tejidos circundantes.
- Solo un cotiledón normal en dicotiledóneas
- Tres o más cotiledones en lugar de dos
- Cotiledones fundidos
- Hojas primarias con daños limitados
- Solo una hoja primaria normal
- Coleóptilo con daños limitados, con una fractura desde la punta que se extiende hacia abajo, no más de un tercio de la longitud (para *Zea mays*, plántulas con defectos de coleóptilo se pueden considerar normal si la primera hoja está intacta).
- Coleóptilo torcido o formando un bucle
- Coleóptilo con una hoja verde que no se extiende hasta la punta, sino que alcanza al menos a la mitad del coleóptilo.

c. Plántulas con infección secundaria

Las plántulas que están afectadas por hongos o bacterias se clasifican como normales si es evidente que la semilla madre no es la fuente de infección y si se puede determinar que todas sus estructuras esenciales están presentes.

2.7.2. PLÁNTULAS ANORMALES

Según lo que menciona la ISTA (2016), las plántulas anormales son aquellas que no muestran el potencial para desarrollarse de forma continua y satisfactoria en plantas, al ser cultivadas en suelos de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura, y luz.

La plántula debe cumplir con una de las siguientes categorías para ser considerada como anormal (ISTA, 2016):

- a. Plántulas dañadas: aquellas que no cuentan con alguna de las estructuras esenciales o en su defecto están mal e irreparablemente dañadas, de tal modo que no se espera un desarrollo balanceado de ellas.
- b. Plántulas deformadas o desequilibradas: aquellas que han tenido un desarrollo débil, alteraciones fisiológicas o presentan estructuras esenciales deformes o desproporcionadas.
- c. Plántulas podridas: aquellas que tienen estructuras esenciales enfermas o podridas debido a una infección primaria, lo cual evita un desarrollo normal.

Uno o más de los siguientes defectos en la plántula la hace anormal (ISTA, 2016):

Anomalías generales en la plántula

- Está deforme
- Está fracturada
- Está podrida como resultado de una infección primaria

- Está compuesta por dos plántulas fusionadas
- Tiene persistencia del collar endospermo
- Está ahilada
- Está vítrea
- Es amarilla o blanca
- Presenta síntomas fitotóxicos
- Esta desbalanceada
- Con endospermo podrido en *Poaceae*
- Tiene cotiledones emergiendo de la capa de la semilla antes que de la raíz primaria

Anormalidades del sistema radicular

En la raíz primaria

- Está atrofiada
- Está mazuda
- Está ausente
- Está rota
- Está hendida desde el extremo
- Está atrapada por la cubierta seminal
- Está raquítica
- Está vítrea
- Está podrida como resultado de una infección primaria

Nota: Cuando las raíces secundarias presenten uno o más de los defectos mencionados anteriormente son consideradas anormales y no pueden reemplazar una raíz primaria

anormal en casos donde la presencia de varias raíces secundarias determina la evaluación de la plántula (ISTA, 2016).

En las raíces seminales

- Están mazudas
- Están débiles
- Están ausentes
- Son vítreas
- Están podridas como resultado de una infección primaria

Nota: al menos una raíz seminal fuerte o dos raíces seminales fuertes para que una plántula sea considerada normal (ISTA, 2016).



Figura 1: Plántulas de maíz con defectos en el sistema radicular; A) sistema radicular ausente; B, C y D) sistema radicular insuficiente; E) sistema radicular atrofiado.

Anormalidades del sistema de brote

En el hipocotilo, epicotilo, o mesocotilo

- Es corto y grueso
- No forma un tubérculo
- Está profundamente agrietado o roto
- Tiene hendidura longitudinal

- Está ausente
- Está curvado o formando un lazo
- Está formando un espiral
- Está fuertemente retorcido
- Tiene constricción
- Está ahilado
- Está vítreo
- Está podrido a consecuencia de la infección primaria
- Con fototropismo negativo

En la yema terminal y tejidos que la rodean

- Está deformada
- Está dañada
- Está ausente
- Está necrótica
- Está podrida como resultado de una infección primaria

Nota: Si no se desarrolló la yema terminal, la plántula es considerada anormal, aun cuando se han desarrollado yemas (*Phaseolus*) o brotes (*Pisum*) en las axilas de los cotiledones (ISTA, 2016).

Anormalidades de los cotiledones y hojas primarias

Los cotiledones (se aplica la regla del 50 por ciento)

- Están hinchados u ondulados
- Están deformados

- Están rotos o dañados
- Están separados de la plántula o ausentes
- Están descoloridos o necróticos
- Están vítreos
- Están podridos como resultado de una infección primaria
- Están soldados en ambos lados

Nota: Son plántulas anormales cuando los daños o podredumbres de los cotiledones están en los puntos de unión con el eje de la plántula o en las proximidades del brote apical, independientemente de la regla del 50 por ciento (ISTA, 2016).

Las hojas primarias (se aplica la regla del 50 por ciento)

- Están deformes
- Están dañadas
- Están ausentes
- Están descoloridas
- Están necróticas
- Están podridas como resultado de una infección primaria
- Tienen forma normal, pero de tamaño inferior a $\frac{1}{4}$ del tamaño promedio de las hojas de las plántulas normales del ensayo (en *Phaseolus*)

Anomalías del coleóptilo y de la hoja primaria

El coleóptilo

- Está mazudo o con otro tipo de deformación
- Está ahilado

- Está ausente
- Está defectuoso
- Está muy curvado o en forma de lazo
- Forma un espiral
- Está fuertemente retorcido
- Está hendido más de 1/3 de su longitud desde el extremo
- Está vítreo
- Está podrido como resultado de una infección primaria
- Está hendido en un sitio diferente al extremo
- Está atrapado bajo la lemma o la testa

Nota: Una plántula que presenta coleótilo atrapado bajo la capa de lemma o semilla se considera normal, si el desarrollo es normal. Si el crecimiento de una semilla de este tipo es atrofiado, debe ser evaluado como anormal (ISTA, 2016).



Figura 2: Plántulas de maíz con defectos en el coleótilo; A, B, C, D y F) coleoptilo hendido en más de un tercio; E) coleoptilo dañado

La hoja primaria

- Esta extendida menos de la mitad de la longitud
- Está ausente

- Está fragmentada o con otro tipo de deformación
- Está saliendo de la parte inferior del coleóptilo
- Está amarilla o blanca (no presenta clorofila)
- Está podrida como resultado de una infección primaria

Las plántulas son consideradas normales si la hoja primaria está intacta o sólo ligeramente dañada y anormales si la hoja primaria está dañada. Aspectos definidos en la Fig. 2 (ISTA, 2016).



Figura 3: Plántulas de maíz con defectos en la hoja primaria; A) plántula normal con hoja intacta; B) plántulas normales con daño ligero en la hoja primaria; C y D) plántulas anormales con daños en más del 50% de la hoja primaria; E) plántula anormal con hoja primaria desarrollada menos del 50%

Si la hoja primaria ha surgido en el momento de la evaluación:

- Coleóptilo dividido por más de un tercio de la longitud de la punta
- Coleóptilo muy inclinado
- Punta del coleóptilo dañada o desaparecida
- Coleóptilo se divide en cualquier lugar debajo de la punta

Si la hoja primaria no ha aparecido en el momento de la evaluación:

- Punta del coleóptilo dañado o desaparecido
- Coleóptilo dividido por más de un tercio de la longitud de la punta
- Hoja sobresaliendo por debajo de la punta del coleóptilo

2.7.3. SEMILLAS NO GERMINADAS

a. Semillas frescas

Son las semillas capaces de absorber agua al someterse bajo condiciones establecidas, cuyo proceso de germinación está bloqueado; es decir, no han sido capaces de germinar bajo las condiciones del ensayo de germinación pero que permanecen sanas y capaces de desarrollarse en plántulas normales.

b. Semillas muertas

Son semillas capaces de absorber agua, suelen ser blandas, decoloradas o pueden estar en estado mohoso. No presentan signos de desarrollo de plántulas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS

Las pruebas de germinación y las de vigor se realizaron en el Laboratorio Oficial de Semillas del Instituto Nacional de Innovación Agraria, las pruebas en campo fueron llevadas a cabo en un campo ubicado en el Instituto Nacional de Innovación Agraria , y la determinación de la humedad de las muestras de suelo para la prueba de frío se hizo en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Aguas, Plantas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (LASPAF- UNALM).

3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

- El lote TUH00832 de semillas de maíz amarillo duro del híbrido DK-7088 cosechado en el año 2016.
- El lote 3C2AE974C de semillas de maíz amarillo duro del híbrido DK-7088 cosechado en el año 2014.
- Cabina de germinación marca Electrolab
- Papel toalla marca Penny Lane de 23cm x 23.5cm
- Agua desionizada (conductividad eléctrica de 0.003mmhos/cm)
- Dos cámaras internas tipo Gerbox
- Estufa marca Venticell
- Desecador de vidrio
- Arena y tierra agrícola
- Envases plásticos
- Bandejas
- Molino eléctrico marca Perten
- Balanza analítica marca Ohaus

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. MUESTRAS DE TRABAJO

Por cada genotipo, se utilizaron 400 semillas para realizar la prueba de germinación estándar, 200 semillas para llevar a cabo la prueba de frío (previo a esta prueba se midió la humedad inicial del sustrato con el que se trabajó), para la prueba de envejecimiento acelerado se usaron 100 semillas (previo a esta prueba se realizó un ensayo preliminar con semillas de maíz del lote PR-378-15 facilitado por INIA para observar si había condensación en las cámaras internas y se midió la humedad de los otros dos lotes de semillas), para la prueba de emergencia en campo se usaron 200 semillas y para la prueba de emergencia en bandejas también se necesitaron 200 semillas. En todas las pruebas, se tomaron semillas al azar con las características de semilla pura. Se trabajó con dos lotes de semillas de la misma variedad, pero de diferente año de cosecha, y con ambos se realizaron las evaluaciones mencionadas.

3.3.2. PRUEBA DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR

Los requerimientos para los ensayos de germinación de *Zea mays* L. fueron tomados de las normas ISTA (2016).

- Se tomó un grupo de 400 semillas al azar.
- Se realizaron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, las cuales fueron escogidas aleatoriamente. Cada repetición se dividió en dos y cada grupo estuvo conformado por 50 semillas, de esa manera se aseguró el espaciamiento adecuado y se minimizó el efecto de las semillas adyacentes en el desarrollo de las plántulas.
- Se humedeció el papel toalla y se usaron dos láminas como base, las cuales fueron extendidas una sobre la otra procurando que no se formen burbujas de aire entre ellas ni arrugas.
- Sobre las dos láminas de papel toalla, completamente húmedas, se colocaron los grupos de 50 semillas y de forma adecuadamente separadas.

- Se cubrieron las semillas holgadamente con otro papel toalla humedecido y se formaron rollos.
- Los rollos fueron ordenados en contenedores de plástico transparente con tapa y se colocaron en forma vertical dentro de la cámara de germinación.
- Cabe señalar que se usó agua desionizada para todo el proceso.
- Los contenedores de plástico fueron lavados y desinfectados previo a su uso.
- Se mantuvo húmedo el sustrato de papel toalla durante los trece días que duró este ensayo. La temperatura dentro de la cabina fue alternada (20°C durante 16 horas y 30°C durante 8 horas). Además, se reguló automáticamente la iluminación artificial dentro de la cabina las 24 horas.
- Se planificó realizar la primera evaluación a los cuatro días, lo cual no pudo ser posible debido a que las plántulas no presentaron un desarrollo adecuado para ser evaluadas, pero se humedeció el papel toalla que estaba seco.
- La segunda evaluación que estaba planificada a los diez días se hizo a los trece días, donde se detectó el desarrollo de plántulas normales y anormales, y semillas frescas, duras y muertas.
- La prueba finalizó a los trece días, ya que había plántulas que no estaban suficiente desarrolladas, por lo tanto, no podían ser evaluadas antes.

3.3.3. PRUEBA DE FRÍO

Los requerimientos para la prueba de frío en de *Zea mays* L. fueron tomados de las normas ISTA (2016), Peretti (1994) y se usó la metodología según Do Rego *et al.* (1999) para determinar la humedad de la mezcla arena/suelo con la que se trabajó en la prueba.

- Se ajustó la humedad de la mezcla arena/suelo a 40 por ciento de su capacidad de retención de agua (Peretti, 1994). La proporción de la mezcla fue de 1:1 y el peso de esta mezcla fue de 4000g.

- Para ajustar la humedad del sustrato primero se drenó y pesó la mezcla, luego se determinó la humedad de saturación de la mezcla y finalmente se calculó el volumen de agua que debió ser adicionada a la mezcla para que llegue a 40 por ciento de su capacidad de retención de agua. Se trabajó con dos repeticiones.
- Se tomaron cuatro repeticiones de 50 semillas cada una. Las semillas de cada repetición fueron divididas en dos submuestras de 25 semillas.
- Se humedeció el papel toalla y se usaron dos láminas como base, las cuales fueron extendidas una sobre la otra procurando que no se formen burbujas de aire entre ellas ni arrugas.
- Se colocaron las submuestras entre dos capas de mezcla de suelo/ arena humedecida adecuadamente. La primera capa se usó como base, donde fueron colocadas 25 semillas, luego se usó otra capa para cubrirlas. Se verificó que todas las semillas estén en contacto directo con la mezcla.
- Se cubrieron las semillas holgadamente con otro papel toalla humedecido y se formaron rollos.
- Los rollos fueron ordenados en contenedores de plástico transparente con tapa y se colocaron en forma vertical dentro de la cámara de frío a 10°C, cerrado y en oscuridad durante siete días.
- Cabe señalar que se usó agua desionizada para todo el proceso.
- Los contenedores de plástico fueron desinfectados previo a su uso.
- Luego, se trasladaron los rollos a una cámara de germinación de 25°C, con luz durante ocho horas diarias, durante siete días.
- Finalmente, los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje de plántulas normales germinadas.

3.3.4. PRUEBA DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Los requerimientos para la prueba de envejecimiento acelerado en *Zea mays* L. y la metodología para determinar la humedad de las semillas de ambos lotes fueron tomados de las normas ISTA (2016). Para la realización de esta prueba de vigor también se consideró la información obtenida de los trabajos de investigación llevados a cabo por Rocha (2010) y Barros (2003).

- Para determinar la humedad de semillas primero fueron molidos los granos en un molino eléctrico (molido fino).
- Se necesitaron tres repeticiones de semilla molida por lote. Estas muestras fueron depositadas en placas Petri para luego ser sometidas a 130°C durante cuatro horas.
- Luego, las muestras fueron colocadas en un desecador de vidrio por dos horas, y finalmente se pesaron.
- Se verificó que la humedad de las semillas se encuentre en un rango de 11-13 por ciento (Filho, 1999).
- Se usaron dos cajas de plástico tipo Gerbox (cámara interna), las cuales fueron lavadas en una solución de hipoclorito de sodio al 15 por ciento y secadas completamente para prevenir la contaminación fúngica.
- La prueba se realizó con 100 semillas de maíz obtenidas de cada lote.
- Cada cámara interna se llenó con 40 ml de agua desionizada, se introdujo la malla de metal asegurándose de no salpicar el agua sobre la superficie de la malla y sobre ella se colocaron 100 semillas de cada lote.
- Las mallas que fueron introducidas en cada cámara sostuvieron las 100 semillas de maíz de cada lote, las cuales quedaron a una distancia de 2,5cm aproximadamente sobre el nivel del agua.
- Fue necesario que las semillas se distribuyeran homogéneamente en el soporte de malla metálica, de lo contrario el envejecimiento no hubiese sido igual en las

semillas debido a que hubiesen absorbido diferente cantidad de agua según su mayor o menor contacto con el vapor.

- Se aseguró la tapa de ambas cámaras para evitar pérdidas de humedad dentro de él.
- Las cámaras internas fueron introducidas a una estufa a 42°C por 96 horas para lograr en el interior de las minicámaras una humedad cercana al 100 por ciento (Peretti, 1994).
- Al concluir el periodo de envejecimiento, las semillas fueron sometidas a la prueba de germinación estándar. Para lo cual se siguió la misma metodología mencionada anteriormente, y se obtuvo cuatro grupos de 25 semillas por lote. Fue importante que la prueba de germinación estándar se realice máximo hasta una hora después de haber sacado las semillas (Filho, 1999).
- La evaluación de las semillas envejecidas se realizó según el criterio establecido por ISTA (2016) para la germinación estándar. Se consideraron semillas con vigor aquellas que produjeron plántulas normales y con un alto poder germinativo, si se encontraba entre 75-80 por ciento para maíz (Peretti, 1994).

3.3.5. PRUEBAS DE EMERGENCIA EN CAMPO

El vigor está relacionado con la fuerza que tiene la semilla para emerger a través del suelo. Se realizaron dos pruebas de emergencia en el Programa de Investigación y Proyección Social de Maíz.

a. PRUEBA EN CAMPO

- Se usó un grupo de 200 semillas divididas en cuatro repeticiones de 50 cada una.
- Se removió la tierra y se preparó el espacio del terreno para sembrar las semillas.

- Por cada repetición, se sembraron cinco hileras a un distanciamiento de 10cm entre ellas, usando una semilla por golpe, a un distanciamiento de 5 cm entre ellas.
- La evaluación de plántulas normales emergidas se realizó al doceavo día.

b. PRUEBA EN BANDEJAS

- Se usó un grupo de 200 semillas divididas en cuatro repeticiones de 50 cada una.
- Las semillas fueron sembradas en recipientes, y se usó la tierra del mismo campo donde se realizó la prueba en campo anteriormente mencionada. Estas bandejas fueron instaladas junto a la prueba anterior y de igual manera evaluada en la misma fecha.
- Por cada repetición, se sembraron cinco hileras a un distanciamiento de 5 cm entre ellas, usando una semilla por golpe, a un distanciamiento de 3 cm entre ellas.
- La evaluación de plántulas normales emergidas se realizó al doceavo día.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los experimentos realizados en laboratorio se condujeron mediante un DCA donde los tratamientos fueron los dos lotes de semillas mencionados anteriormente. Cada lote se dividió en cuatro, de esta manera las cuatro repeticiones fueron muestras de semillas de ambos lotes.

$$Y_{ij} = u + L_i + E_{ij}; i= 1,2 \quad j=1,2,3,4$$

Y_{ij} = Porcentaje de germinación de la muestra del lote i, en la repetición j.

u = Promedio general

L_i = Efecto del lote i

E_{ij} = Error experimental en la muestra del lote i

Los experimentos realizados en campo se condujeron mediante un DBCA donde los bloques fueron las repeticiones de cada lote. En este caso las condiciones de siembra no fueron iguales para todas las repeticiones debido a que las condiciones del campo y del medio ambiente no son homogéneas.

$$Y_{ij} = u + L_i + R_j + E_{ij}; i= 1,2 \quad j=1,2,3,4$$

Y_{ij} = Porcentaje de la germinación del lote i en la repetición j .

u = Promedio general

L_i = Efecto del lote i

R_j = Efecto de la repetición j

E_{ij} = Error experimental en la muestra del lote i en la repetición j .

Para la aleatorización se formaron cuatro muestras de 300 semillas, con las cuales se formaron cuatro submuestras de 100, 50, 50 y 100 semillas. Cada submuestra sirvió para analizar las cuatro variables en investigación.

3.4.2. ANÁLISIS DE VARIANZA

Los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio y campo fueron sometidos a un análisis de varianza. Esta prueba evaluó si las medias poblacionales eran iguales, y se verificó la significancia de esta igualdad a través de una prueba de Tukey.

- Si el valor de P , entregado por la prueba de Tukey era menor o igual a 0.05, quería decir que existían diferencias significativas entre los lotes de semillas, con un 95 por ciento de confianza. Es decir, al menos uno de los lotes era diferente al resto.
- Si el valor P era mayor a 0.05, quería decir que no existían diferencias significativas entre los lotes de semillas.

3.4.3. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN

Se determinó el coeficiente de correlación entre los resultados de germinación de las pruebas de laboratorio y los resultados de emergencia de las pruebas de campo y en bandejas, obtenidos de las cuatro repeticiones de los dos lotes.

Este coeficiente cuantificó la asociación que existe entre dos variables y se verificó si hay o no relación entre ellas.

El coeficiente de correlación siempre estará acotado entre valores -1 y 1, por lo tanto:

- Si el coeficiente de correlación fuese cercano a 0, indicaría que existe total independencia entre las variables.
- Si el coeficiente fuese cercano a -1 ó 1, indicaría que hay asociación entre las variables. De esta manera, si el coeficiente fuese negativo o inverso, la explicación de una variable sobre la otra estará dada porque a medida que una aumenta, la otra disminuye. Si el coeficiente fuese positivo o directo, la explicación de una variable sobre la otra estará dada porque a medida que una aumenta, la otra también aumenta.

3.4.4. COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN

Se determinó el coeficiente de determinación, el cual es el coeficiente de correlación de Pearson elevado al cuadrado, y da la proporción de variación de la variable Y que es explicada por la variable X (variable predictora o explicativa).

El coeficiente de determinación estará acotado entre valores 0 y 1, por lo tanto:

- Si el coeficiente de determinación fuese 0, indicaría que la variable predictora no tiene capacidad de predecir la variable Y.
- Si el coeficiente de determinación fuese 1, la variable predictora explicaría toda la variación de Y, y las predicciones no tendrían error. Cuanto mayor sea el coeficiente, mejor será la capacidad de predicción.

3.5. PARÁMETROS EVALUADOS

En las cinco pruebas se evaluó el porcentaje de plántulas normales de acuerdo con los criterios establecidos por ISTA (2016).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

En los diferentes ensayos se utilizaron las siguientes abreviaturas:

- Al lote 3C2AE974C, cosechado en el 2014, se le llamó LOTE “A”.
- Al lote TUH00832, cosechado en el año 2016, se le llamó LOTE “B”.
- PN: Plántulas normales
- PA: Plántulas anormales
- SF: Semillas frescas
- SM: Semillas muertas
- SD: Semillas duras
- P1: Prueba de germinación estándar
- P2: Prueba de frío
- P3: Prueba de envejecimiento acelerado
- P4: Prueba en campo
- P5: Prueba en bandejas

4.1. PRUEBAS DE LABORATORIO

4.1.1. PRUEBA DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR

La prueba se instaló el 4 de abril del 2017. Se había planificado realizar el primer conteo de plántulas a los cuatro días, pero no fue posible debido a que las plántulas no habían desarrollado sus estructuras esenciales, por lo tanto, no podían ser evaluadas. Sin embargo, se verificó que no exista alguna semilla o plántula que deba ser eliminada y que afecte el desarrollo de las demás.

En los rollos de papel de ambos lotes hubo infección por hongos por lo que fue necesario un microscopio para observar si las semillas presentaban infección primaria o secundaria. En ambos casos, la presencia de hongos resultó por infección secundaria.

La segunda evaluación se planificó a los siete días, pero algunas plántulas todavía no podían ser evaluadas porque no presentaban el desarrollo de sus estructuras esenciales. Por

esta razón se esperó hasta los trece días (lunes 17 de abril) para evaluar. Los resultados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Porcentaje de germinación en el último conteo de la prueba de germinación estándar.

REPETICIÓN	LOTE A					LOTE B				
	PN	PA	SF	SM	SD	PN	PA	SF	SM	SD
% Germinación	96	3	0	1	0	99	0	0	1	0

Al comparar el porcentaje de germinación (Cuadro 1) entre los dos lotes se observó que la germinación en el lote A (cosechado en 2014) fue menor que la germinación del lote B (cosechado en 2016).

La pérdida progresiva del vigor de las semillas es causada por su deterioro, lo cual produce finalmente la muerte de las semillas (Delouche citado por Díaz, 2009). Hay diferentes causas que justifican el progresivo deterioro de las semillas con el tiempo como la disminución de reservas al haber desnaturalización de algunas proteínas e hidrólisis parcial de lípidos, alteraciones del material genético y acumulación de metabolitos tóxicos (Filho, 1999).

Por otro lado, las anomalías que se observaron al analizar las plántulas fueron similares a los descritos previamente (Fig. 1 y 2), donde los principales daños del lote A fueron raíz atrofiada y daños a nivel del coleóptilo, mientras que en el lote B solo se detectó una plántula anormal que presentó daños a nivel del coleóptilo.

Los resultados obtenidos a partir del ANOVA sobre la prueba de germinación estándar (Cuadro 2), mostraron que sí hubo diferencias significativas entre ambos lotes, lo que indica que esta prueba pudo detectar la diferencia de calidad entre los lotes. En el caso del lote A, el tiempo de cosecha, condiciones de almacenamiento o constitución genética mermaron su calidad fisiológica (Díaz, 2009); sin embargo, la prueba de germinación estándar indicó que estos factores no afectaron en gran manera el porcentaje de germinación del lote.

Cuadro 2: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de germinación estándar.

LOTE	PRUEBAS
B	99 a
A	96 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

4.1.2. PRUEBA DE FRÍO

Para instalar esta prueba, la mezcla suelo/arena debió tener un contenido de humedad de 40 por ciento de su capacidad de retención de agua. Se calculó el agua que debió añadirse, para lo cual se trabajó con dos repeticiones.

- Se halló la humedad de la mezcla arena suelo (ISTA, 2004).

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Peso inicial (g) = peso de la muestra antes de secar

Peso final(g)= peso de la muestra después de secar

El contenido de humedad de la mezcla arena/suelo fue el promedio de las dos repeticiones.

R1: 1.7339 %

R2: 1.7291 %

Humedad (%) = 1.7315%

- Se halló la capacidad de retención del sustrato. Para ello, se usaron botellas donde se depositó la mezcla y se añadió agua hasta el tope (saturación), se dejó drenar por un día, y luego se secaron las muestras en la estufa para realizar el mismo cálculo explicado en el punto anterior.

El contenido de humedad de la mezcla fue el promedio de las dos repeticiones.

R1: 28.4224 %

R2: 28.3781 %

Humedad (%) = 28.4003 %

- Cálculo del volumen de agua que se adicionó a la mezcla de arena/suelo usada en la prueba de frío.

Se usó 4000g de sustrato (2000g de tierra + 2000g de arena) y el 1.7315% del peso de esa mezcla fue agua. La capacidad de retención de agua de esa mezcla al saturarla fue de 28.4003%, es decir, el 71.5997% de la mezcla fue peso seco.

Si la total capacidad de retención de agua de la mezcla fue de 28.4003%, entonces su capacidad al 40% fue de 11.3601%, pero si la mezcla ya tenía una humedad de 1.7315%, el agua que se debió añadir fue de 9.6286% de la mezcla.

Se agregó 385.144ml de agua

La prueba se instaló el 4 de abril del 2017. Se colocaron las semillas en la cámara de frío a 10°C por siete días, luego fueron trasladadas a una cámara de germinación de 25°C por siete días y finalmente fueron evaluadas.

La evaluación final se realizó el 18 de abril del 2017. Los resultados se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Porcentaje de germinación de la prueba de frío.

REPETICIÓN	LOTE A					LOTE B				
	PN	PA	SF	SM	SD	PN	PA	SF	SM	SD
% Germinación	91	6	0	3	0	98	2	0	0	0

Si bien la prueba de frío es una de las pruebas más usadas y con mayor capacidad de predecir el desempeño germinativo de un lote en el campo (Hampton y TeKrony, 1995), para evaluar la germinación hay factores que se deben tomar en cuenta, como la desuniformidad causada por el origen de la tierra, por el agua en el sustrato y el periodo necesario para que el sustrato alcance la temperatura deseada (Rocha, 2010). Es posible entonces que estos factores hayan influido en la respuesta de las semillas a la prueba de frío.

Al llevar a cabo esta prueba de vigor se lograron simular las situaciones de cama de siembra en el campo debido a que intervienen factores como bajas temperaturas, elevado nivel de retención de agua y presencia de patógenos del suelo, lo cual produce un severo estrés fisiológico que interfiere en el proceso de germinación de plántulas (ISTA, 2016), además la baja temperatura del agua embebida por la semilla aumenta las posibilidades de generación de daños mecánicos sobre células, tejidos y estructuras embrionarias que terminan afectando toda la actividad metabólica de las semillas.

Respecto a los resultados de germinación, en ambos lotes los principales daños fueron a nivel de raíces y de coleóptilo y se observó que aumentó el número de plántulas anormales detectadas en comparación con la prueba de germinación estándar, lo cual se debe a que las pruebas de vigor son mucho más sensibles que la prueba de germinación estándar para dar un índice sobre la calidad de las semillas (Díaz, 2009).

Los resultados obtenidos a partir del ANOVA sobre la prueba de frío muestran que sí hubo diferencias significativas entre ambos lotes (Cuadro 4).

Los resultados de germinación de la prueba de frío fueron similares a los encontrados en la prueba de germinación estándar, y mayores a los del envejecimiento acelerado, lo cual coincidió con los resultados obtenidos por Barros (2003) y Díaz (2009). Esto sucedió porque las bajas temperaturas no impusieron una condición adversa.

Adicionalmente, ambos lotes presentaron un porcentaje de plántulas normales mayor a 70-85 por ciento y a 80 por ciento, lo que es un indicador según Do Rego, *et al.* (1999) y Peretti (1994), respectivamente, para determinar el buen desempeño de los lotes de semillas en el campo.

Cuadro 4: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de frío.

LOTE	PRUEBAS
B	98 a
A	91 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

4.1.3. PRUEBA DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO

Se halló el contenido de humedad de las semillas antes y después de realizar la prueba de envejecimiento acelerado. Los resultados se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5: Contenido de humedad de las semillas de ambos lotes antes y después de realizar la prueba de envejecimiento acelerado.

HUMEDAD EN SEMILLAS (%)	LOTE A	LOTE B
Antes de la prueba	12.06	11.62
Después de la prueba	16.22	17.33
Ganancia de humedad	4.16	5.71

Antes del envejecimiento acelerado se verificó que la humedad de las semillas fuera de 11-14%, como lo recomienda Hampton y TeKrony (1995) y Filho (1999), y que el rango de variación de humedad entre ambos lotes sea de 1-2% de humedad (Filho, 1999). Si las semillas mostraban contenidos iniciales de humedad muy diferentes, pudo haber una

variación acentuada en la velocidad de humedecimiento durante el envejecimiento y ciertamente en la intensidad de deterioro (Filho, 1999) por lo que el contenido inicial de las semillas hubiese tenido que ser reajustado a ese rango de humedad. Los resultados mostraron una humedad inicial entre 11-12 por ciento y una variación de 0.44 por ciento de humedad entre el lote A y B, lo cual es lo aceptable para que la prueba no tenga que ser realizada nuevamente. Al terminar la prueba, las semillas ganaron entre 4-5% de humedad.

Las semillas envejecidas fueron sometidas a la prueba de germinación durante siete días. Esta parte de la prueba se empezó el 16 de mayo del 2017 y la evaluación final se hizo el 23 de mayo. Los resultados se muestran en el Cuadro 6.

Cuadro 6: Porcentaje de germinación de la prueba de envejecimiento acelerado.

REPETICIÓN	LOTE A					LOTE B				
	PN	PA	SF	SM	SD	PN	PA	SF	SM	SD
% Germinación	57	9	0	34	0	76	15	0	9	0

Durante la prueba de germinación aparecieron una gran cantidad de hongos sobre ambos lotes. Es probable que sea por el tiempo o la temperatura a la cual las semilla estuvieron sometidas a 100 por ciento de humedad relativa, lo cual ocasionó un deterioro exagerado en ellas, favoreciendo la aparición de hongos y su proliferación durante el desarrollo de la prueba dificultando el análisis de los lotes. Todo esto se tradujo en una pérdida de eficiencia de la prueba de envejecimiento acelerado en cuanto a la evaluación de los lotes, ya que ambos presentaron signos de deterioro.

La pérdida de calidad interna de las semillas, a causa del fuerte envejecimiento fue muy severa y se expresó como una reducción drástica del porcentaje de germinación debido al aumento en la producción de plántula anormales (Alizaga et. al, 1992).

Por lo tanto, con la prueba de envejecimiento acelerado la evaluación fue más dificultosa que con la prueba de frío ya que los resultados se vieron afectados por la aparición de los hongos. Respecto al porcentaje de germinación obtenido, se puede señalar que disminuyó con respecto a la prueba de germinación estándar a causa del envejecimiento de las semillas.

Los resultados obtenidos a partir del ANOVA sobre la prueba de envejecimiento acelerado muestran que sí hubo diferencias significativas entre ambos lotes (Cuadro 7).

Cuadro 7: Promedio de germinación de los dos lotes de semillas en la prueba de envejecimiento acelerado.

LOTE	PRUEBAS
B	76 a
A	57 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

4.2. PRUEBAS DE EMERGENCIA EN CAMPO

4.2.1. PRUEBA EN CAMPO

Las semillas fueron sembradas el 02 de junio del 2017, empezaron a emerger al cuarto día y la evaluación se realizó al doceavo día el 14 de junio del 2017. Los resultados se muestran en el Cuadro 8.

Cuadro 8: Porcentaje de emergencia de los dos lotes de semillas sembradas en la prueba en campo.

REPETICIÓN	LOTE A					LOTE B				
	PN	PA	SF	SM	SD	PN	PA	SF	SM	SD
% Germinación	94	3	0	3	0	98	1	0	1	0

Ambos lotes presentaron un buen porcentaje de emergencia, pero fue menor que el de la prueba de germinación estándar. Asimismo, sí hubo diferencias significativas entre ambos casos (Cuadro 9). Cuando las condiciones durante la emergencia son favorables, las diferencias entre germinación estándar y emergencia en campo son mínimas (Quintana, 2007).

Al realizar el ANOVA para comparar la prueba P4 entre ambos lotes se vio que hubo diferencias significativas entre ellos (Cuadro 9).

Cuadro 9: Promedio de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba de campo.

LOTE	PRUEBAS
B	98 a
A	94 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

4.2.2. PRUEBA EN BANDEJAS

Las semillas fueron sembradas el 02 de junio del 2017, empezaron a emerger entre el tercer y cuarto día y la evaluación se realizó al doceavo día el 14 de junio del 2017. Los resultados se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10: Porcentaje de emergencia de la prueba de semillas sembradas en bandejas expuestas a condiciones de campo.

REPETICIÓN	LOTE A					LOTE B				
	PN	PA	SF	SM	SD	PN	PA	SF	SM	SD
% Germinación	94	4	0	2	0	98	2	0	0	0

Al realizar el ANOVA para comparar la prueba P5 entre ambos lotes se vio que no hubo diferencias significativas entre ellos (Cuadro 11) posiblemente porque la calidad de los lotes fue similar.

Cuadro 11: Promedio de emergencia de los dos lotes de semillas en la prueba en bandejas.

LOTE	PRUEBAS
B	98 a
A	94 a

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.3.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS

a. ENTRE LOS DOS LOTES

Se realizó la comparación de medias para los lotes A y B, donde se encontraron diferencias significativas entre ambos (Cuadro 12).

Cuadro 12: Promedio general de los resultados de los lotes A y B en base a todas las pruebas realizadas.

LOTE	PRUEBAS
B	94 a
A	86 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Los lotes A y B presentaron diferencias significativas respecto a su germinación. El modelo brindó una explicación del 82.40% respecto a la variabilidad observada en los resultados experimentales a nivel general, lo cual se considera como un resultado bastante aceptable.

b. ENTRE LAS PRUEBAS DEL LOTE A

Cuadro 13: Promedios de los resultados de las pruebas del lote A.

PRUEBAS	CLASIFICACION
P1	96 a
P4	94 a
P5	94 a
P2	91 a
P3	57 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Los resultados mostrados en el Cuadro 13, indican que sí hubo diferencias significativas entre las cinco pruebas del lote A. Mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, se concluye que la P3 presentó diferencias significativas frente a las demás pruebas.

Por otro lado, las pruebas P1, P2, P4 y P5 no mostraron diferencias significativas entre sí respecto a su porcentaje de germinación. Esto pudo deberse a que en la prueba P3 las semillas fueron sometidas a mayores niveles de estrés, por lo tanto, su germinación disminuyó y el número de plántulas normales por repetición fue menor que en las otras pruebas. La prueba de envejecimiento se basa en el aumento de la tasa de deterioro de las semillas a través de su exposición a niveles adversos de temperatura y humedad relativa (Filho, 1999). De igual manera, una prueba de vigor constituye un índice de calidad fisiológica más sensible que la prueba de germinación estándar (Rocha, 2010).

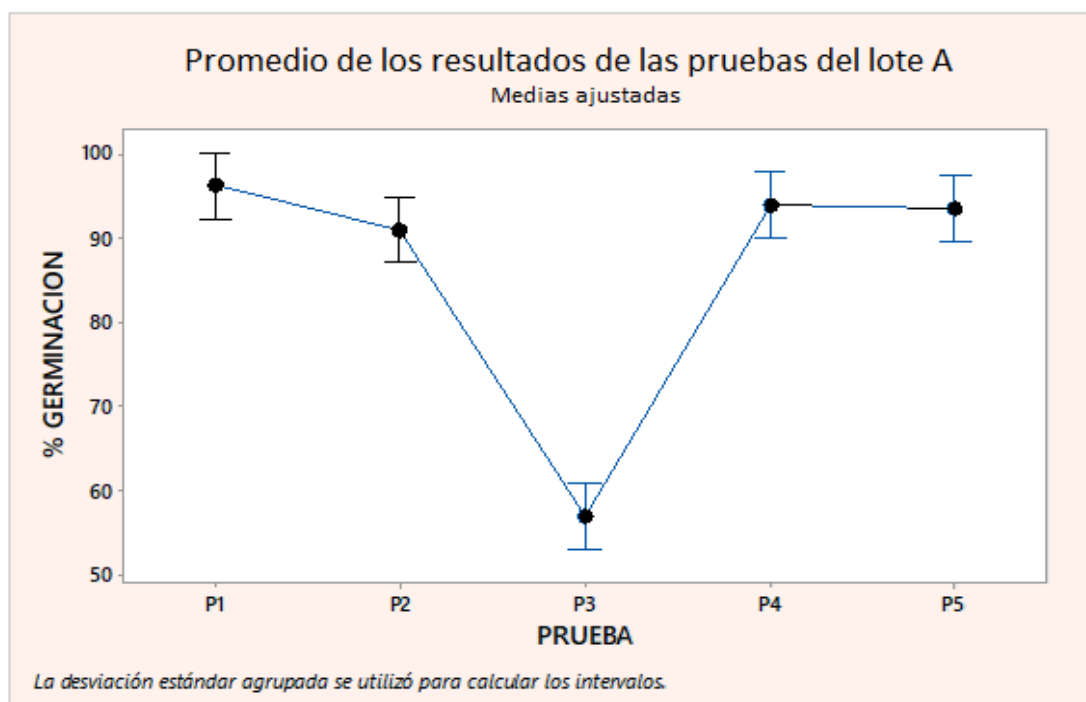


Figura 4: Las medias de las pruebas en el lote A

En la Fig. 4, se puede ver que la media de germinación de las pruebas P1, P2, P4 y P5 fue similar. Se puede pensar que la calidad de las semillas es buena ya que aun habiendo sido sometidas a estrés en la prueba de frío y al haberse sembrado en campo en condiciones subóptimas comparado con la germinación estándar, los resultados fueron parecidos. Por otro lado, P3 presentó una germinación mucho menor inclusive a las pruebas de campo (P4 y P5), por lo que podemos decir que las condiciones de esta prueba son de mucho estrés. Comportamientos similares fueron reportados en los trabajos de investigación de Barros

(2003), Rocha (2010) y Quintana (2007) donde emplearon semillas de lechuga, maíz y cebolla respectivamente.

c. ENTRE LAS PRUEBAS DEL LOTE B

Cuadro 14: Promedios de los resultados de las pruebas del lote B.

PRUEBAS	CLASIFICACION	
P1	99	a
P4	98	a
P2	98	a
P5	98	a
P3	76	b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, se concluye que hay diferencias significativas entre P3 y las demás pruebas. Las pruebas P1, P2, P4 y P5 no mostraron diferencia significativa entre ellas (Cuadro 14).

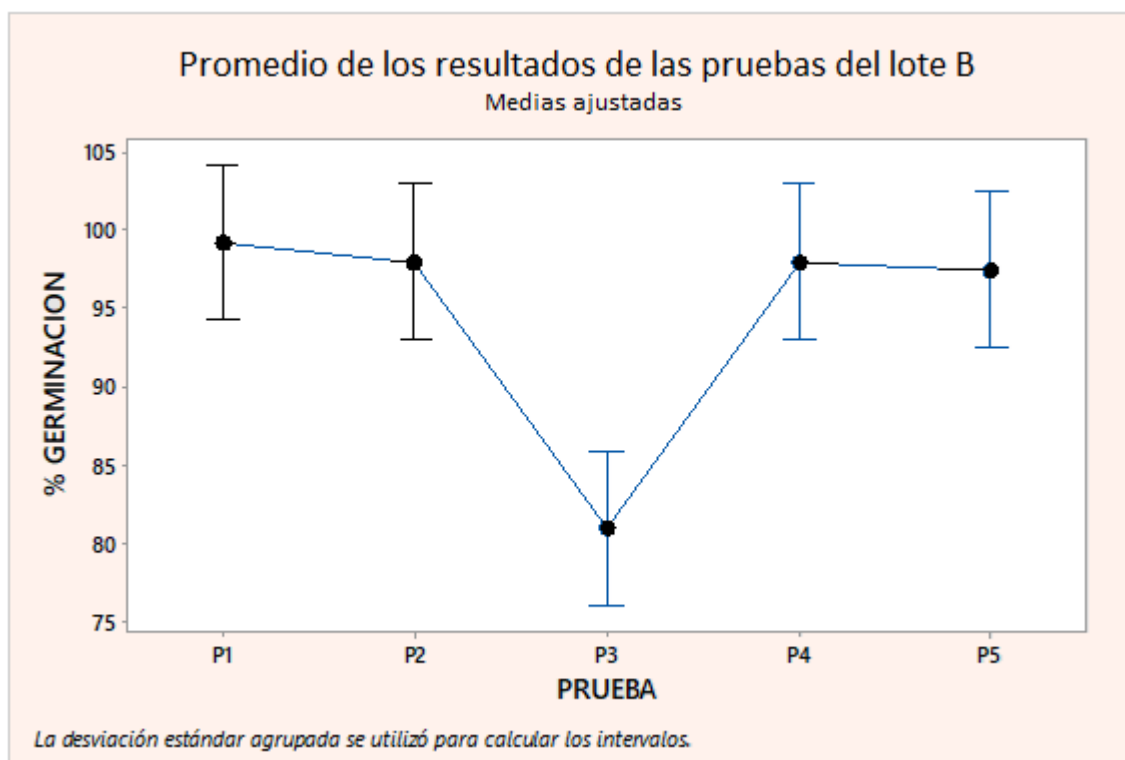


Figura 5: Las medias de las pruebas en el lote B

En la Fig. 5 se puede ver que las medias de germinación de las pruebas P1, P2, P4 y P5 fueron similares. Al igual que con el lote A, se puede pensar que la calidad de las semillas es buena ya que aun habiendo sido sometidas a estrés (P2 y P3), y al haberse sembrado en condiciones subóptimas en campo (P4 y P5), el número de plántulas normales fue parecida a P1, donde las condiciones fueron óptimas para la germinación. Por otro lado, P3 presentó una germinación mucho menor inclusive a las pruebas de campo, por lo que podemos decir que las condiciones de esta prueba son de mucho estrés ya que está muy por debajo del promedio de semillas germinadas en campo.

d. ENTRE PRUEBAS DE LABORATORIO (P1, P2, P3)

Cuadro 15: Promedio de los resultados de germinación de las pruebas realizadas en laboratorio P1, P2 y P3.

PRUEBAS	CLASIFICACIÓN
P1	98 a
P2	95 a
P3	67 b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, se concluye que hay diferencias significativas entre las pruebas P1, P2 con la prueba P3, mientras que P1 y P2 no presentan diferencias significativas (Cuadro 15).

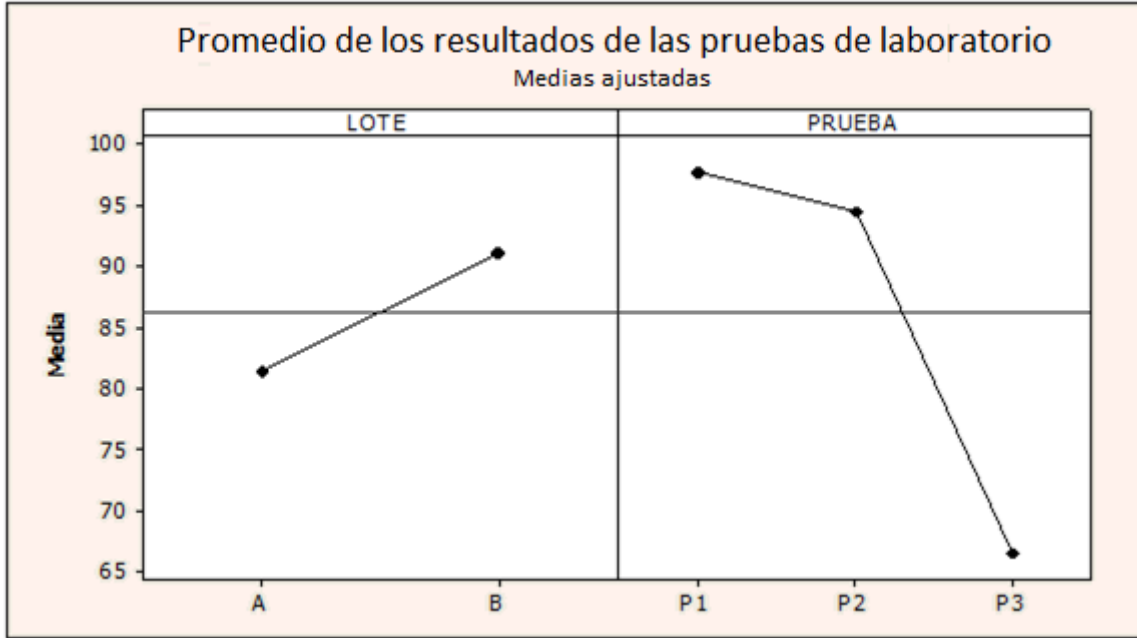


Figura 6: Las medias de las pruebas P1, P2 y P3

En la Fig. 6 se observa que la germinación entre las P1 y P2 fue similar, mientras que, en la P3, la germinación fue mucho más baja que el promedio.

e. ENTRE PRUEBAS DE CAMPO (P4, P5)

Cuadro 16: Promedio de los resultados de emergencia de las pruebas realizadas en campo P4 y P5

PRUEBAS	CLASIFICACIÓN
P4	96 a
P5	96 a

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, se concluye que no hay diferencias significativas entre las pruebas P4 y P5 las cuales fueron conducidas en campo (Cuadro 16).

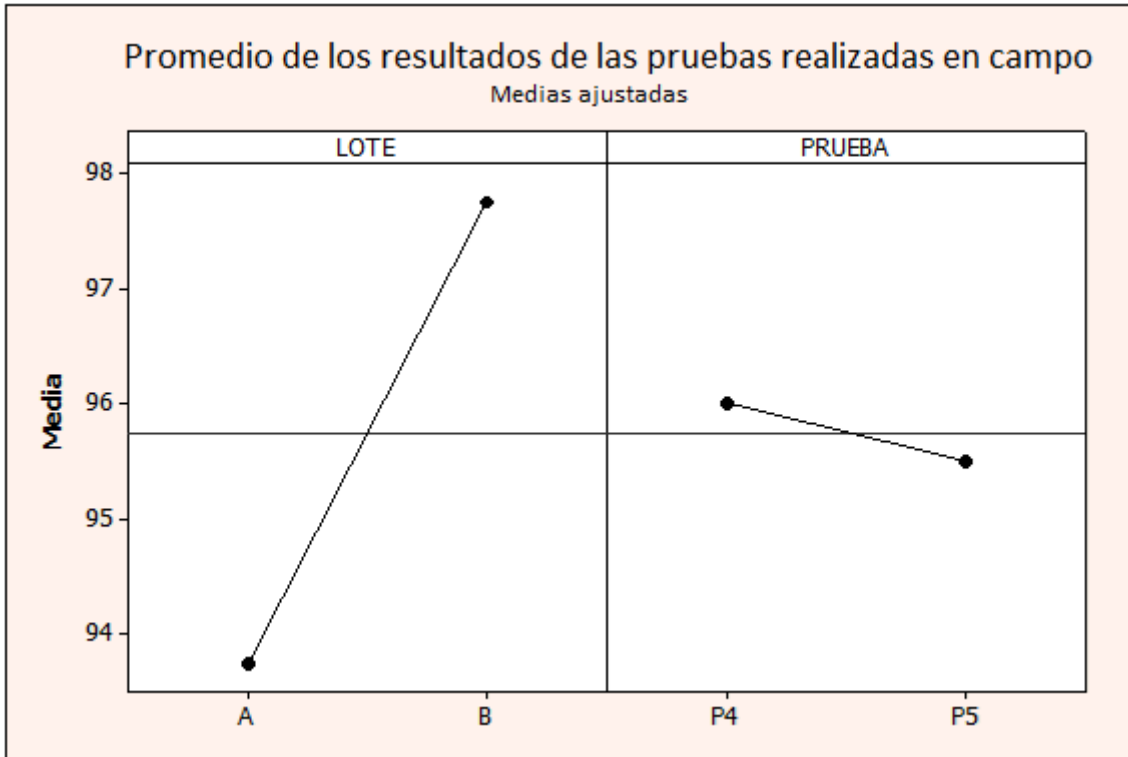


Figura 7: Las medias de las pruebas P4 y P5

f. ENTRE LAS CINCO PRUEBAS DE AMBOS LOTES

Debido a que se encontraron diferencias significativas entre ambos lotes, se hizo también la comparación de medias a nivel de pruebas para encontrar cuál de ellas presentó diferencias significativas.

Cuadro 17: Promedio de resultados de todas las pruebas entre el lote A y B.

PRUEBAS	CLASIFICACION	
P1	98	a
P4	96	a
P5	96	a
P2	95	a
P3	67	b

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

Mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, se concluye que hay diferencias significativas entre las pruebas P1, P2, P4 y P5 con P3. La figura 8, muestra estos resultados.

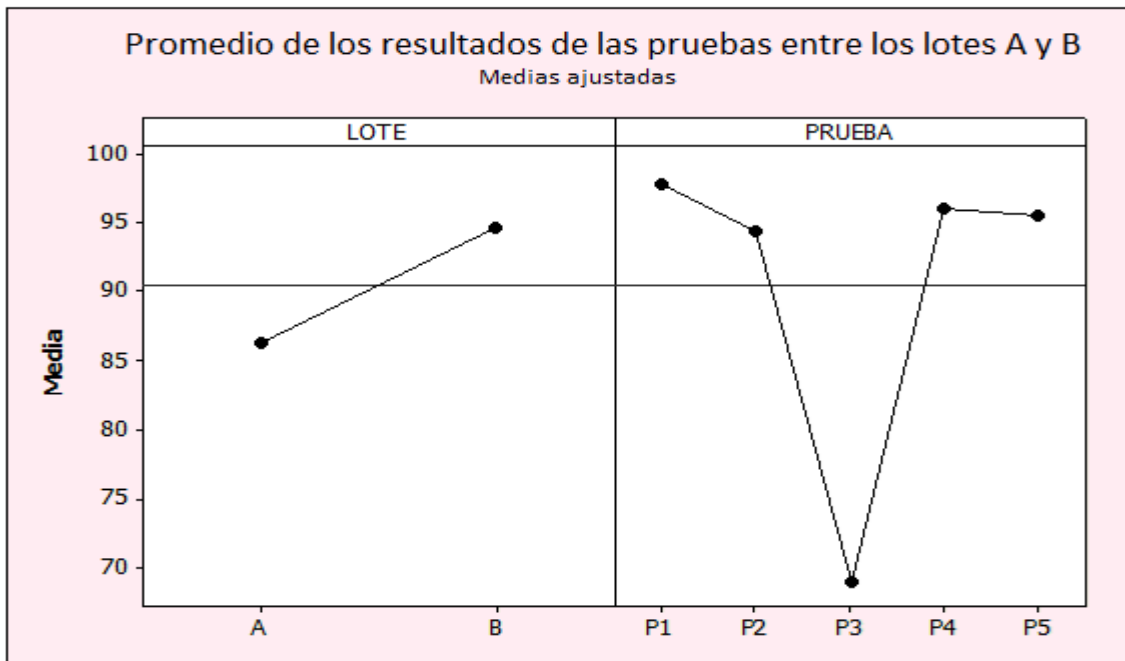


Figura 8: Las medias de todas las pruebas.

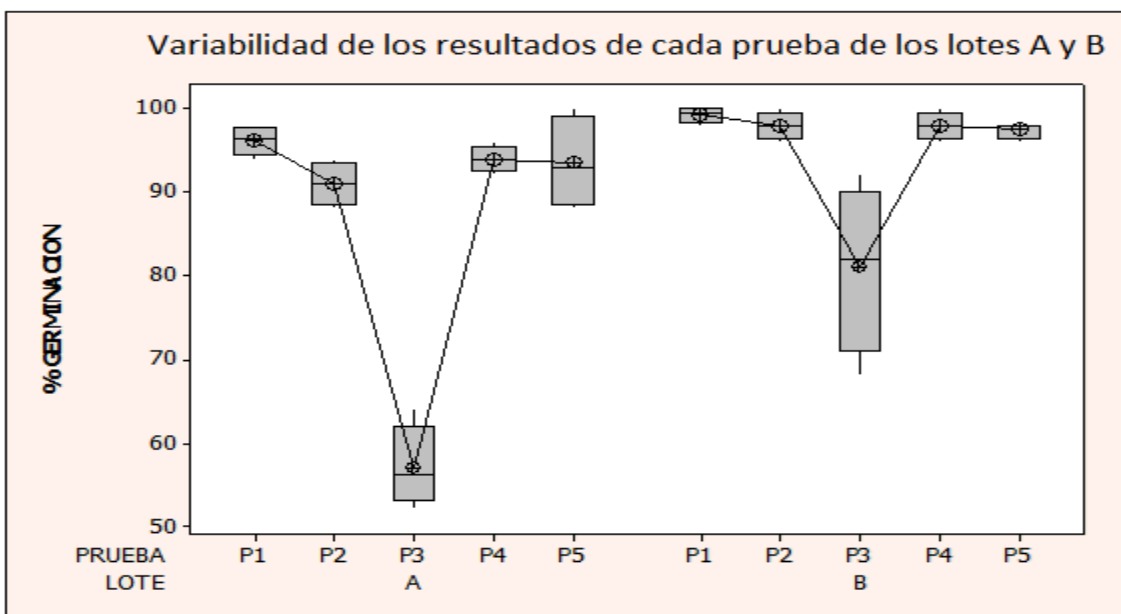


Figura 9: Variabilidad de los resultados de germinación de cada prueba

La Fig. 9 muestra la variabilidad que hubo en la germinación de las cinco pruebas a las cuales fueron sometidos los lotes A y B. La tendencia observada en la germinación se mantuvo durante la emergencia en el campo (Alizaga et. al., 1992), siendo esta menor en el lote de menor vigor.

Se puede ver que en las cinco pruebas del lote B hubo mayores valores de germinación respecto al lote A y que ambos tuvieron una variación parecida respecto al porcentaje de germinación.

Hubo mayor variación en la germinación de las pruebas del lote A; sin embargo, el rango en el que se mantuvo la germinación para ambos lotes fue parecido.

Cuadro 18: Promedio de los resultados de germinación estándar, las pruebas de vigor y las pruebas realizadas en campo, comparados entre ambos lotes.

LOTE	PRUEBAS				
	P1	P2	P3	P4	P5
B	99 a	98 a	76 a	98 a	98 a
A	96 b	91 b	57 b	94 b	94 a

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey y una confianza de 95%.

En todas las pruebas, la media del lote B fue mayor que en el lote A, y sólo hubo diferencias significativas en la prueba P5 (Cuadro 18).

4.3.2. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN

El orden que se consideró para esta prueba fue el de prueba, repetición y lote.

Cuadro 19: Coeficientes de correlación entre todas las pruebas de laboratorio y campo.

	P1	P2	P3	P4
P2	0.738 0.037**			
P3	0.593 0.121 ns	0.647 0.083*		
P4	0.638 0.089*	0.463 0.248 ns	0.857 0.007**	
P5	0.640 0.088*	0.778 0.023**	0.264 0.527 ns	0.103 0.808 ns

Contenido de la celda: Correlación de Pearson y significación.

La primera fila de cada celda es el valor del coeficiente de correlación r y la segunda fila es el p-valor.

*= Significancia con $P < 0.10$

**= Significancia con $P < 0.05$

ns= no significativo

Los datos del análisis de correlación entre las pruebas de laboratorio y las pruebas de campo muestran el grado de acierto proporcionado por una prueba de laboratorio en su predicción del rendimiento germinativo de un lote cuando se siembra en el campo (Rocha, 2010).

La prueba de germinación estándar no puede clasificar a los lotes de semillas cuando tienen calidad parecida, debido a que no es una prueba sensible a las diferencias potenciales que puede haber entre los lotes (Díaz, 2009), mientras que una prueba de vigor sí permite detectar las diferencias que hay entre los lotes.

En el caso de las semillas utilizadas para este estudio, hubo diferencia de calidad entre los lotes. Es posible que la prueba de germinación estándar los clasifique según su calidad y tenga una correlación significativa con los resultados de emergencia en campo (Cuadro 19).

La exigente evaluación en la prueba de germinación estándar aumentó la sensibilidad de esta prueba para detectar diferencias entre los lotes, y se comportó como una prueba de vigor, lo cual también permitió que esta prueba obtenga una buena correlación con la prueba de frío (Cuadro 19).

Elias y Copeland citados por Barros (2003) establecen que la prueba de germinación estándar puede ser un índice preciso de la emergencia en campo cuando las condiciones de él son favorables, pero se vuelve menos sensible cuando los lotes de semillas poseen una calidad similar y cuando las condiciones de campo son subóptimas. Asimismo, Peretti (1994) señala que los resultados de la prueba de germinación estándar se correlacionan bien con la prueba en campo siempre que las condiciones sean favorables, sin embargo, no es lo que realmente ocurre en campo.

Hubo una alta correlación entre las dos pruebas de vigor (P2 y P3) y las pruebas hechas en campo (P5 y P4) lo cual indica que ambas fueron pruebas consistentes para el análisis de semillas de maíz del híbrido DK-7088. Resultados parecidos se encontraron en el trabajo de investigación con semillas de maíz híbrido realizado por Rocha (2010) y en la investigación de Quintana (2007) quien trabajó con semillas de cebolla.

Quintana (2007), menciona que la correlación de una prueba de vigor puede ser mejor o peor según las condiciones de campo en que las semillas vayan a ser sembradas o utilizadas. Por esto cada prueba de vigor debería ser específica según el cultivo en el que se aplique y las condiciones de campo donde se siembre.

De acuerdo con el análisis de correlación (Cuadro 19) se encontró que sí existe suficiente evidencia estadística para afirmar que hay correlaciones altas y positivas entre las pruebas de laboratorio y las pruebas de emergencia en campo. Se determinó que ambas pruebas de vigor tuvieron un coeficiente de correlación alto pero la que mejor se correlacionó con la emergencia en el campo fue la prueba de envejecimiento acelerado.

4.3.3. COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN

El coeficiente de determinación se halló elevando al cuadrado el coeficiente de correlación.

Cuadro 20: Coeficientes de determinación entre las pruebas de laboratorio y campo.

	P1	P2	P3	P4
P2	0.545 **			
P3	0.352 n.s.	0.419 *		
P4	0.407 *	0.214 n.s.	0.734 **	
P5	0.409 *	0.605 **	0.007 n.s.	0.011 n.s.

*= Significancia con $P < 0.10$, en la correlación de Pearson y significación.

**= Significancia con $P < 0.05$, en la correlación de Pearson y significación.

n.s.= no significativo, en la correlación de Pearson y significación.

El coeficiente de determinación fue más significativo en aquellos casos donde la correlación entre pruebas fue significativa, e indicó en cuánto una variable explicó el comportamiento de otra variable.

Los coeficientes de determinación entre las dos pruebas de vigor (P2 y P3) y las dos pruebas en campo (P4 y P5) fueron los más altos, donde el mayor coeficiente fue el de la prueba de envejecimiento acelerado y la prueba en campo. El 73.4% de la variación observada en los porcentajes de emergencia de la prueba en campo (variable dependiente) es explicada por la variación de la germinación de semillas de la prueba de envejecimiento acelerado (variable independiente) y, el 60.5% de la variación observada en los porcentajes de emergencia de semillas sembradas en bandejas (variable dependiente) es explicada por la variación de la germinación de las semillas en la prueba de frío (variable independiente).

V. CONCLUSIONES

La prueba de vigor más adecuada para medir la calidad de las semillas de los dos lotes de maíz híbrido DK-7088 fue la prueba de envejecimiento acelerado.

Se detectó la diferencia de calidad entre los dos lotes de semillas de maíz con las dos pruebas de vigor, con la prueba de germinación estándar y con la prueba en campo. En la prueba de frío, el lote B se mostró más vigoroso que el lote A con un porcentaje de germinación de 98% mientras que el lote A tuvo 91% de germinación y, en la prueba de envejecimiento acelerado ocurrió lo mismo, el lote B se mostró más vigoroso con un porcentaje de germinación de 76% mientras que el lote A tuvo 57% de germinación.

La exigencia en la evaluación de la prueba de germinación estándar permitió que, al igual que con las pruebas de vigor, sea lo suficientemente sensible para determinar la diferencia de calidad entre los lotes A y B.

Todas las correlaciones que hubo entre las pruebas fueron positivas y altas. Hubo correlación entre la prueba de envejecimiento acelerado con la prueba en campo y entre la prueba de frío con la prueba en bandejas. El resultado más alto se obtuvo con la prueba de envejecimiento acelerado con un coeficiente de correlación de 0.857, es decir, con una alta asociación entre la germinación y emergencia de estas pruebas.

El mayor coeficiente de determinación también fue entre la prueba de envejecimiento acelerado y la prueba en campo. Así, el 73.4% de la variabilidad de la emergencia en campo fue explicada por el porcentaje de germinación en la prueba de envejecimiento acelerado.

VI. RECOMENDACIONES

La prueba de envejecimiento acelerado no ha sido estandarizada para maíz, es decir, no hay un tiempo establecido al que deba someterse a las semillas a condiciones de estrés (ISTA, 2016). En este caso se recomienda someter a las semillas por un tiempo menor a 96 horas ya que presentaron un gran deterioro o de lo contrario a una menor temperatura, considerando lo mencionado por Filho (1999), que las temperaturas entre 37-39°C muestran resultados semejantes a los de la prueba de germinación estándar por lo que la prueba no tendría mayor sensibilidad para detectar la calidad fisiológica de las semillas.

Debido a las condiciones de almacenamiento de la empresa Hortus, sus semillas deben ser almacenadas por un tiempo no mayor a un año. Además, sería recomendable implementar un sistema de refrigeración y mayor hermeticidad a sus almacenes.

Es recomendable que INIA implemente otras pruebas de vigor según las condiciones de siembra de las semillas y que, en la prueba de frío, ajuste el contenido de humedad del sustrato según lo especificado por ISTA para cada cultivo, además de usar tierra del campo donde será sembrado el lote de semillas que se someta a la prueba de frío.

Realizar las pruebas de manera organizada para que la evaluación sea detallada y minuciosa, considerando que la clasificación de plántulas normales y anormales es visual.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agraria.pe. 2015. 70% de maíz amarillo duro destinado a la Industria Avícola es importado (en línea). Lima, Perú. Consultado el 04 de junio 2018. Disponible en: <http://agraria.pe/noticias/70-de-maiz-amarillo-duro-destinado-a-la-8805>
- Alberto Sergio do Rego *et al.* 1999. En ABRATES (Associação brasileira de tecnologia de sementes comite de vigor de sementes, BR). Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Eds. Krzyzanowski, F.; Daiton R.; De Barros. José. Brasil. p. C5
- Alizaga, R.; Sterling, F.; Herrera, J. 1992. Evaluación de vigor en semillas de maíz y su relación con el comportamiento en el campo (en línea). Costa Rica. Consultado el 12 de marzo 2018. Disponible en: http://www.mag.go.cr/rev_agr/v16n02_203.pdf
- Barros, M. 2003. Pruebas de vigor en semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y su correlación con la emergencia. Tesis. Ing. Agr. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Departamento de Ciencias Vegetales. p. 7, 11, 12,17,30, 31, 32
- Beingolea L., 2015. Manejo y Control de Semillas. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Agronomía. p. 61,62.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, ME). 1998. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo (en línea). Manual de laboratorio. Consultado 9 de febrero del 2017. Disponible en <https://books.google.com.pe>
- Copeland, L.; McDonald, M. 2001. Principles of Seed Science and Technology (en línea). 4 ed. Kluwer Academic Publishers. Estados Unidos de América. Consultado 10 de febrero 2017. Disponible en: <https://books.google.com.pe>
- Díaz, R. 2009. Pruebas de viabilidad y vigor en semillas de maíz (*Zea mays*) y su correlación con la emergencia en campo. Tesis Mg. Sc. Tingo María, Perú.

Universidad Nacional Agraria de la Selva. Facultad de Agronomía. Departamento Académico de Ciencias Agrarias. p. 47-84.

- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento (en línea). Consultado 02 de marzo 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011
- El Comercio. 2016. Costos de importación de semillas se podrían elevar hasta 10% (en línea). Lima, Perú. Consultado 20 de febrero 2017. Disponible en <http://elcomercio.pe>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1979. Legislación de semillas (en línea). Consultado 04 de junio 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/012/ak453S/ak453S.pdf>
- Filho, M. 1999. En ABRATES (Associação brasileira de tecnologia de sementes comite de vigor de sementes, BR). Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Eds. Krzyzanowski, F.; Daiton R.; De Barros. José. Brasil. p. C1-C3
- Gestión. 2017. Perú planea elevar uso de semillas mejoradas de 12 por ciento a 50 por ciento en cinco años, según Minagri. Lima, Perú. Consultado 27 febrero 2017. Disponible en: <http://gestion.pe>
- Hampton, J.G. & TeKrony D.M. 1995. Handbook of Vigour Test Methods. Zurich, Switzerland. p. C. 1-4
- José de Barros Franca Neto, 1999. En ABRATES (Associação brasileira de tecnologia de sementes comite de vigor de sementes, BR). Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Eds. Krzyzanowski, F.; Daiton R.; De Barros. José. Brasil. p. C8
- Soplín, H. y Beingolea, L. 1986. Curso de actualización a nivel profesional Convenio INIPA-UNA-IEE: Manejo y Control de semillas. Perú. p. 41,42,45.

- Herrera, J.; Alizaga, R.; Guevara, E.; Jiménez, V. 2006. Germinación y crecimiento de la planta (en línea). Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica. Consultado 3 feb. 2017. Disponible en <https://books.google.com.pe>
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2012. IV CENAGRO (IV Censo Nacional Agropecuario) (en línea). Perú. Fecha de consulta: 15 de febrero del 2017. Disponible en: <http://proyectos.inei.gob.pe>
- INEI. 2018. Nota de Prensa (en línea). Perú. Fecha de consulta: 28 de marzo del 2018. Disponible en: <http://m.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-n-009-2018-inei.pdf>
- INTA (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria). 2013. Evaluación de calidad de semillas: Prueba de germinación para semillas de granos básicos (en línea). Nicaragua. Ed. Ferrufino A. Consultado 5 mayo 2018. Disponible en http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/manuales_catalogos/EVALUACION%20CALIDAD%20DE%20SEMILLAS.pdf
- ISTA (International Seed Testing Association). 2016. International Rules for Seed Testing. ed.2016. Switzerland. p. C5.1-10
- ISTA (International Seed Testing Association). 2004. International Rules for Seed Testing. ed. 2014. Switzerland. p. C9. 3
- ISTA (International Seed Testing Association). 1995. Handbook of Vigour Test Methods. ISTA Vigour Test Committee. 3 ed. Switzerland. p. 4, 14
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2018. Boletín de Maíz amarillo duro-2018 (en línea). Lima Perú. Consultado 04 de junio 2018. Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/boletin-de-maiz-amarillo-duro/maiz-2018>
- MINAM (Ministerio del Ambiente).2017. Importación de semillas sujetas a control durante el 2016 (en línea). Lima, Perú. Consultado 20 febrero 2017. Disponible en: <http://bioseguridad.minam.gob.pe>

- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Regras para análise de sementes. Assessoria de Comunicação Social. BR, Brasília. p. 198.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Primera edición. Buenos Aires. Hemisferio Sur. p. 13,198,204,209-212
- Perry, D.A. 1981. Handbook of Vigour Test Methods. Zurich, Switzerland. p. 45
- Quintana, M. 2007. Pruebas de vigor para evaluar semilla de cebolla y melón en relación con emergencia en campo. Tesis. Buenavista, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Subdirección de Postgrado. p. 40-63
- Rocha, W. 2010 Pruebas de vigor en semillas de maíz. Tesis. Sao Paulo, Brasil. Universidad Estadual Paulista. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias. p. 22,23,40,46
- Valdivia, C. 2015. Prueba de tetrazolio en semillas de espárrago (*Asparagus officinalis* L.). Tesis. Lima. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. Facultad de Agronomía. p. 17.
- Vilela de Resende, E. 1999. En ABRATES (Associação brasileira de tecnologia de sementes comite de vigor de sementes, BR). Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Eds. Krzyzanowski, F.; Daiton R.; De Barros. José. Brasil. p. C8

VIII. ANEXOS

8.1. Anexo 1: ANÁLISIS DE VARIANZA

8.1.1. Anexo 2: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LOTES

Modelo lineal general: % GERMINACION vs. LOTE; PRUEBA

Factor	Tipo	Niveles	Valores
LOTE	Fijo	2	A; B
PRUEBA	Fijo	5	P1; P2; P3; P4; P5

Análisis de varianza para % GERMINACION, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
LOTE	1	705.6	705.6	705.6	20.83	0.000
PRUEBA	4	4688.4	4688.4	1172.1	34.60	0.000
Error	34	1151.9	1151.9	33.9		
Total	39	6545.9				

S = 5.82060 R-cuad. = 82.40% R-cuad. (ajustado) = 79.81%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

LOTE	N	Media	Agrupación
B	20	94.8	A
A	20	86.3	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PRUEBA	N	Media	Agrupación
P1	8	97.8	A
P4	8	96.0	A
P5	8	95.5	A
P2	8	94.5	A
P3	8	69.0	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.2. Anexo 3: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE PRUEBAS DEL LOTE A

Modelo lineal general: GERMINACION vs. PRUEBA

Factor	Tipo	Niveles	Valores
PRUEBA	Fijo	5	P1; P2; P3; P4; P5

Análisis de varianza para GERMINACION, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PRUEBA	4	4362.8	1090.70	80.30	0.000
Error	15	203.8	13.58		
Total	19	4566.6			

S = 3.68556 R-cuad. = 95.54% R-cuad. (ajustado) = 94.35%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PRUEBA	N	Media	Agrupación
P1	4	96.25	A
P2	4	91	A
P3	4	57	A
P4	4	94	A

P5 4 93.5 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.3. Anexo 4: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE PRUEBAS DEL LOTE B

Modelo lineal general: GERMINACION vs. PRUEBA

Factor	Tipo	Niveles	Valores
PRUEBA	Fijo	5	P1; P2; P3; P4; P5

Análisis de varianza para GERMINACION, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PRUEBA	4	952.0	238.00	11.10	0.000
Error	15	321.8	21.45		
Total	19	1273.8			

S = 4.63141 R-cuad. = 74.74% R-cuad. (ajustado) = 68.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PRUEBA	N	Media	Agrupación
P1	4	99.250	A
P4	4	98.000	A
P2	4	98.000	A
P5	4	97.500	A
P3	4	81.00	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.4. Anexo 5: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO

Modelo lineal general: GERMINACION vs. LOTE; PRUEBA

Factor	Tipo	Niveles	Valores
LOTE	Fijo	2	A; B
PRUEBA	Fijo	3	P1; P2; P3

Análisis de varianza para GERMINACION, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
LOTE	1	560.7	560.7	560.7	20.28	0.000
PRUEBA	2	4723.0	4723.0	2361.5	85.43	0.000
Error	20	552.8	552.8	27.6		
Total	23	5836.5				

S = 5.25753 R-cuad. = 90.53% R-cuad. (ajustado) = 89.11%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

LOTE	N	Media	Agrupación
B	12	91.1	A
A	12	81.4	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PRUEBA	N	Media	Agrupación
P1	8	97.8	A
P2	8	94.5	A
P3	8	66.5	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.5. Anexo 6: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LAS PRUEBAS DE CAMPO

Modelo lineal general: GERMINACION vs. LOTE; PRUEBA

Factor	Tipo	Niveles	Valores
LOTE	Fijo	2	A; B
PRUEBA	Fijo	2	P4; P5

Análisis de varianza para GERMINACION, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
LOTE	1	64.000	64.000	64.000	7.56	0.017
PRUEBA	1	1.000	1.000	1.000	0.12	0.737
Error	13	110.000	110.000	8.462		
Total	15	175.000				

S = 2.90887 R-cuad. =37.14% R-cuad. (ajustado) = 27.47%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

LOTE	N	Media	Agrupación
B	8	97.8	A
A	8	93.8	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PRUEBA	N	Media	Agrupación
P4	8	96.0	A
P5	8	95.5	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.6. Anexo 7: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LA PRUEBA DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR DE AMBOS LOTES

ANOVA unidireccional: GERMINACION vs. LOTE

Comparación de la prueba 1 de ambos lotes

Fuente	GL	SC	CM	F	P
LOTE	1	18.00	18.00	9.39	0.022
Error	6	11.50	1.92		
Total	7	29.50			

S = 1.384 R-cuad. = 61.02% R-cuad. (ajustado) = 54.52%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

LOTE	N	Media	Agrupación
B	4	99.250	A
A	4	96.250	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.7. Anexo 8: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LA PRUEBA DE FRÍO DE AMBOS LOTES

ANOVA unidireccional: GERMINACION vs. LOTE

Comparación de la prueba 2 entre ambos lotes

Fuente	GL	SC	CM	F	P
LOTE	1	98.00	98.00	21.00	0.004
Error	6	28.00	4.67		
Total	7	126.00			

S = 2.160 R-cuad. = 77.78% R-cuad. (ajustado) = 74.07%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

LOTE	N	Media	Agrupación
B	4	98.000	A
A	4	91.000	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.8. Anexo 9: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LA PRUEBA DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO DE AMBOS LOTES

ANOVA unidireccional: GERMINACION vs. LOTE

Comparación de la prueba 3 entre ambos lotes

Fuente	GL	SC	CM	F	P
LOTE	1	722.0	722.0	18.36	0.005
Error	6	236.0	39.3		
Total	7	958.0			

S = 6.272 R-cuad. = 75.37% R-cuad. (ajustado) = 71.26%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

LOTE	N	Media	Agrupación
B	4	76.000	A
A	4	57.000	B

8.1.9. Anexo 10: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LA PRUEBA DE CAMPO DE AMBOS LOTES

ANOVA unidireccional: GERMINACION vs. LOTE

Comparación de la prueba 4 entre ambos lotes

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
LOTE	1	32.00	32.000	12.00	0.013
Error	6	16.00	2.667		
Total	7	48.00			

S = 1.63299 R-cuad. = 66.67% R-cuad. (ajustado) = 61.11%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

LOTE	N	Media	Agrupación
B	4	98	A
A	4	94	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.1.10. Anexo 11: ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE LA PRUEBA EN BANDEJAS DE AMBOS LOTES

ANOVA unidireccional: GERMINACION vs. LOTE

Comparación de la prueba 5 entre ambos lotes

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
LOTE	1	32.00	32.00	2.04	0.203
Error	6	94.00	15.67		
Total	7	126.00			

S = 3.95811 R-cuad. = 25.40% R-cuad. (ajustado) = 12.96%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

LOTE	N	Media	Agrupación
B	4	97.500	A
A	4	93.50	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8.2. Anexo 12: RESULTADOS DE MEDIAS

Estadísticos descriptivos: GERMINACION

Resultados de LOTE = A

Estadísticas

Variable	PRUEBA	N	Media
GERMINACION	P1	4	96.25
	P2	4	91.00
	P3	4	57.00
	P4	4	94.00
	P5	4	93.50

Resultados de LOTE = B

Estadísticas

Variable	PRUEBA	N	Media
GERMINACION	P1	4	99.25
	P2	4	98.00
	P3	4	76.00
	P4	4	98.00
	P5	4	97.50

Cuadro de promedios de germinación

	P1	P2	P3	P4	P5
A	96.25	91	57	94	93.50
B	99.25	98	76	98	97.50

8.3. Anexo 13: COEFICIENTE DE CORRELACIONES

	P1	P2	P3	P4
P2	0.738 0.037			
P3	0.593 0.121	0.647 0.083		
P4	0.638 0.089	0.463 0.248	0.857 0.007	
P5	0.640 0.088	0.778 0.023	0.264 0.527	0.103 0.808

Contenido de la celda: Correlación de Pearson
Valor P