



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN



VNAM

COMPARACION DE TRES PRUEBAS PARA  
EVALUAR VIGOR EN SEMILLAS DE FRIJOL  
(Phaseolus vulgaris L.)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA AGRÍCOLA

P R E S E N T A

PATRICIA CAMARGO LOPEZ

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

DIRECTOR DE TESIS  
M.C. GABRIEL GARCÍA DE LOS BARRIOS

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX. 1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

PAGINA

INDICE DE CUADROS .....	iii
INDICE DE FIGURAS DEL APENDICE .....	iv
RESUMEN .....	v
I. INTRODUCCION .....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	6
2.1 Concepto de semilla e importancia.....	6
2.2 Calidad de semilla.....	7
2.3 Evaluacion de la calidad de la semilla .....	8
2.3.1 Calidad genética .....	8
2.3.2 Calidad física .....	9
2.3.3 Calidad fisiológica .....	10
2.3.4 Sanidad .....	11
2.4 Viabilidad .....	12
2.4.1 Concepto sobre germinación .....	13
2.4.1.1 Aspectos fisiológicos .....	14
2.4.1.2 Ensayo de germinación .....	15
2.5 Vigor de semilla .....	18
2.5.1 Concepto e importancia .....	18
2.5.2 Evaluación del vigor .....	20
2.5.2.1 Pruebas directas .....	21
2.5.2.2 Pruebas indirectas .....	27
2.6 Conservación de semillas durante el almacenamiento .....	28
2.6.1 Cambios asociados con el deterioro .....	29
2.6.2 Factores que afectan la longevidad de semillas .....	31
2.6.2.1 Factores genéticos .....	32
2.6.2.2 Factores de producción .....	33
2.6.2.3 Composición de la semilla .....	34
2.6.2.4 Ambiente de almacén .....	35
III. MATERIALES Y METODOS .....	37
3.1 Ensayo preliminar .....	37
3.2 Ubicación del experimento .....	39
3.3 Material genético .....	39
3.4 Pruebas de vigor .....	41
3.4.1 Prueba de envejecimiento acelerado .....	41
3.4.2 Prueba de cloruro de amonio .....	44
3.4.3 Prueba de agua caliente .....	44
3.5 Evaluacion de los tratamientos .....	45
3.5.1 Ensayo de laboratorio .....	45
3.5.2 Ensayo de invernadero .....	46
3.6 Variables estudiadas .....	47

3.7 Análisis estadístico .....	49
IV. RESULTADOS .....	50
4.1 Evaluación en laboratorio .....	50
4.1.1 Análisis de varianza .....	50
4.1.2 Comparación de medias entre tratamientos .....	52
4.1.3 Comparación de medias entre variedades .....	55
4.2 Evaluación en invernadero .....	58
4.2.1 Análisis de varianza .....	58
4.2.2 Comparación de medias entre tratamientos .....	60
4.2.3 Comparación de medias entre variedades .....	62
V. DISCUSION .....	69
5.1 Factores de estudio principales .....	69
5.2 Deterioro producido en función a los tratamientos .....	71
5.3 Respuesta de variedades a las pruebas de vigor .....	75
5.4 Comparación de resultados obtenidos en laboratorio e invernadero .....	77
5.5 Discusión general de las pruebas evaluadas .....	79
VI. CONCLUSIONES .....	81
VII. BIBLIOGRAFIA .....	83
VIII. APENDICE.....	88

## INDICE DE CUADROS

CUADRO

PAGINA

1. Descripción del material genético utilizado.....	40
2. Descripción de tratamientos utilizados en cada una de las pruebas de vigor.....	42
3. Cuadros medios y significancia estadística de las variables estudiadas en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) en condiciones de laboratorio.....	51
4. Comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$ ) para tratamientos en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables bajo condiciones de laboratorio.....	53
5. Comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$ ) para variedades en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables bajo condiciones de laboratorio.....	56
6. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables estudiadas en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC), para algunas variables bajo condiciones de invernadero.....	59
7. Comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$ ) para tratamientos en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables bajo condiciones de laboratorio.....	61
8. Comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$ ) para variedades en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables bajo condiciones de laboratorio.....	63
9. Comparación conjunta del comportamiento de las pruebas para caracteres comunes, bajo condiciones de Laboratorio (L) e Invernadero (I).....	66
10. Resumen del comportamiento varietal en las tres pruebas para algunas variables de interés (Laboratorio e Invernadero).....	68

## INDICE DE FIGURAS DEL APENDICE

### FIGURAS

### PAGINAS

1.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Americano para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	89
2.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Bayo Mecentral para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	90
3.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol California Small White para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	91
4.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Negro Puebla para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	92
5.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Flor de Mayo de Guía para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	93
6.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Texcoco para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	94
7.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Zarco para por ciento de germinación y materia seca (datos de laboratorio).....	95
8.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Americano para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	96
9.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Bayo Mecentral para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	97
10.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol California Small White para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	98
11.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Negro Puebla para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	99
12.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Flor de Mayo de Guía para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	100
13.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Texcoco para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	101
14.	Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Zarco para por ciento de germinación y materia seca (datos de invernadero).....	102

## RESUMEN

Tomando en cuenta que algunas pruebas de vigor son difíciles de manejar y limitan su uso a ciertas especies, el presente trabajo fue planteado con el objetivo de comparar las pruebas de cloruro de amonio y de agua caliente con la de envejecimiento acelerado con el fin de determinar su efecto en el deterioro de diferentes variedades de frijol y validar su posible uso como pruebas útiles en la evaluación de vigor, así como evaluar el comportamiento intervarietal en cuanto a susceptibilidad al deterioro.

El estudio consistió en someter siete variedades de frijol bajo diferentes tratamientos en las pruebas de envejecimiento acelerado (72, 96, 120, 132 horas.), cloruro de amonio (1% 3 horas, 2% 2 horas, 3% 2 horas.), y agua caliente (90, 105, 135 segundos. a 80 °C ), los cuales se evaluaron mediante pruebas de germinación en laboratorio e invernadero, midiendo parámetros tales como porcentaje de germinación, plántulas anormales, longitud de tallo y raíz, materia seca y primer conteo. Con la información registrada, se efectuó un análisis de varianza y comparación de medias (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

De los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Además de la de envejecimiento acelerado, la prueba que proporcionó un mayor deterioro y por lo tanto fue útil para medir el vigor de las semillas fue la prueba de cloruro de amonio.

2. Es necesario explorar un mayor número de tratamientos de estrés en la prueba de agua caliente con el fin de producir mayor deterioro en éstas variedades de frijol, y así definir tendencias de comportamiento y similitud entre las pruebas que se comparen.

3. La similitud de comportamiento entre pruebas indicó que es factible utilizar la prueba de cloruro de amonio para evaluar vigor de semillas en las variedades Pinto Americano, Negro Puebla, Pinto Zarco y Pinto Texcoco, las que además resistieron más el deterioro.

4. Hubo un comportamiento diferencial significativo entre variedades manifestado mediante dos grupos bien definidos por su menor o mayor susceptibilidad al deterioro, siendo de este último las variedades, Bayo Mecentral y California Small White.



5. Hubo asociación entre pruebas y variedades, lo que podría indicar que algunas pruebas de vigor son más apropiadas que otras de acuerdo con el genotipo evaluado.

6. Se considera que aún es necesario obtener más información referente a la bondad de estas pruebas a fin de lograr su estandarización, para su uso más confiable y generalizado en la evaluación de vigor de semillas.

## I. INTRODUCCION

La disponibilidad de buena semilla es un factor importante, pues ello determina en buena medida el éxito de la producción. No sólo en frijol, sino en muchos otros cultivos, año con año dentro de la actividad agrícola nacional, se requiere de grandes cantidades de semilla de excelente calidad de siembra y así poder iniciar el nuevo ciclo de cultivo.

La calidad de la semilla depende de las medidas de prevención, supervisión y control que se ejecuten durante las diferentes fases del ciclo de cultivo como son: producción en campo, beneficio en la planta y en su posterior almacenamiento; es en estas etapas donde la calidad de semilla puede disminuirse, tanto por las condiciones climáticas como por factores diversos que inciden directamente en las mismas. Como una de las etapas clave del proceso de producción, la conservación de las semillas ha sido siempre motivo de preocupación para el hombre, obligándolo a buscar medios idóneos para conservarlas con un mínimo de pérdida y por un mayor tiempo de almacenamiento. La conservación de semillas en cualquier localidad depende de la ecología de la región, la temperatura y la humedad, así como de la clase de almacén o

bodega disponible, del tipo y la condición de la semilla y de la duración del almacenamiento.

Sin duda uno de los principales daños que ocurre durante el almacenamiento, es el deterioro de la semilla reflejado por la pérdida de vigor y la viabilidad. Esta pérdida de viabilidad es un parámetro importante en la evaluación de la calidad de la mayoría de las especies cultivadas. La semilla de frijol como una de ellas está sujeta al deterioro normal que ocurre en el almacenamiento, sobre todo si las condiciones que prevalecen en dicho lugar en cuanto a temperatura y humedad relativa, no son idóneas, lo que provoca reducción de vigor y viabilidad así como la aparición de plántulas anormales. Por lo tanto la disponibilidad de métodos adecuados de detección y evaluación del nivel de calidad de la semilla es fundamental.

Existen varias formas de evaluar el nivel de calidad de un lote de semillas y el uso apropiado de algunas pruebas disponibles permiten detectar grados relativamente pequeños de deterioro en las semillas con el fin de tomar las medidas correctivas ya sea para disminuir el deterioro o prevenir que ocurra de nuevo. En la actualidad existen pruebas, tanto de campo como de laboratorio que están siendo utilizadas para evaluar el vigor de las semillas,

como un indicador de su nivel de calidad.

En este sentido en ultimas fechas se han estado implementando procedimientos directos como la prueba de envejecimiento acelerado que junto con las evaluaciones de germinación constituyen una buena alternativa para conocer el nivel de calidad de lotes de semillas de diversas especies. Sin embargo las principales desventajas de esta prueba son el tiempo requerido para aplicarla lo que propicia el ataque de hongos; dificulta la interpretación de los niveles de calidad, control cuidadoso de la temperatura y humedad relativa; ademas dicha prueba no necesariamente es adecuada para todas las especies y requiere así mismo de la disponibilidad de cierto equipo o en su defecto, adaptación del ya existente.

Alternativamente, existe la posibilidad de usar otras técnicas que ofrecen ventajas en cuanto a manejo y tienen el mismo propósito además de ofrecer bondades similares a la de envejecimiento acelerado, en cuanto a similitud de comportamiento; ellas son la prueba de inmersión en cloruro de amonio y estrés en agua caliente, de las cuales la información disponible es muy reducida.

De acuerdo a lo antes mencionado, este trabajo se plantea con el propósito de obtener más información en lo

referente a la posible utilización de otras pruebas que puedan tener bondades para su implementación y representen por lo tanto opciones valiosas para utilizarse en forma paralela con la prueba de envejecimiento acelerado; sobre todo cuando en esta última se presentan las dificultades de implementación ya indicadas que limitan su uso en ciertas especies con requerimientos y manejos particulares.

Con base en lo anterior, este trabajo fue realizado bajo los objetivos siguientes:

- 1) Comparar las pruebas de inmersión en cloruro de amonio y estrés en agua caliente con la de envejecimiento acelerado, a fin de determinar su grado de deterioro en diferentes variedades de frijol.

- 2) Observar efectos de interacción entre las diferentes variedades de frijol y las pruebas de vigor utilizadas, y evaluar el comportamiento intervarietal en cuanto a la susceptibilidad o resistencia al deterioro.

- 3) Contribuir al estudio y conocimiento de éstas técnicas y en función de su comportamiento en la semilla de frijol, inferir en la posible utilización como pruebas de vigor en semillas de otros cultivos.

Para el cumplimiento de estos objetivos, las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

1.- Las pruebas de inmersión en cloruro de amonio y estrés en agua caliente, producen efectos similares al envejecimiento acelerado en lo que se refiere a la reducción de vigor en semilla de frijol.

2.- Las variedades de frijol responden de manera diferente según la prueba de estrés a que son sometidas, así como la susceptibilidad o resistencia al deterioro.

3.- Es posible utilizar la inmersión en cloruro de amonio y el agua caliente como medios para producir estrés y reducir vigor de semillas de frijol.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Concepto de semilla e importancia

La semilla es la parte del fruto de la planta que asegura la reproducción y continuidad de la especie cuando ésta germina en condiciones adecuadas (53). El término "semilla" tiene dos acepciones: una del punto de vista botánico sin considerar ninguna otra estructura adicional; la otra definición se refiere a la unidad que se emplea comúnmente para fines de siembra independientemente de su estructura (58). Moreno (45), señala que en términos agronómicos y comerciales se conoce como semilla a toda clase de granos, frutos y estructuras más o menos complejas (unidad semilla) que se emplea en las siembras agrícolas; también menciona que botánicamente una semilla verdadera es un embrión en estado latente, acompañado o no de tejidos nutricionales y protegido por episperma.

Para Ruiz *et al.* (58), la semilla es el óvulo fecundado, transformado y maduro de las plantas; asimismo, indica que es una parte fundamental que tiene como función reproducir y perpetuar la especie.

Dentro de la actividad agrícola la semilla juega un papel de suma importancia, ya que es el principal insumo para el establecimiento de un cultivo y del cual dependen los

agricultores para obtener una buena producción; debido a esto se reconoce la importancia de sembrar semilla de buena calidad. Las semillas son de influencia dominante en la producción mundial de alimentos y representan más de la mitad del abastecimiento mundial en la dieta humana, de energía y proteína (18). En este aspecto, las leguminosas juegan un papel muy importante por su tradición y potencialidad como fuente de proteínas para la alimentación, (14).

## 2.2 Calidad de semilla

La calidad de semilla, según Bustamante (9), es un concepto múltiple que comprende varios aspectos, algunos de mayor importancia y se refiere a la utilidad de la semilla para siembra. Para Ramírez (53), el establecimiento de un buen cultivo depende en gran parte de la buena calidad de la semilla y en esto Moreno (45), coincide señalando que la capacidad de la semilla para producir una planta normal, es el principal atributo para evaluar su calidad y potencial agrícola.

La calidad de la semilla depende de las medidas de prevención, supervisión y control que se ejecuten durante el ciclo de su producción en el campo, durante su beneficio en la planta y en su almacenamiento (11). Por otro lado para FAO (21), la calidad constituye la suma de múltiples atributos de las mismas: fidelidad con el cultivar, daños mecánicos, capacidad y vigor de germinación, infecciones debidas a



enfermedades, daños provocados por los insectos, tratamiento, tamaño, contenido de humedad, frecuencia de semillas de malas hierbas comunes y nocivas, semillas de otros cultivos y material inerte. En todo momento es necesario identificar claramente los aspectos que requieren atención y definir los límites de tolerancia que garanticen, en cada etapa, el logro de la máxima calidad física y genética de la semilla producida.

El más alto nivel de calidad de la semilla se obtiene en la madurez fisiológica, después de esta etapa, la calidad decrece en forma paulatina (20), como consecuencia del proceso de envejecimiento natural, lo que trae consigo un proceso de deterioro que acarrea una serie de cambios degenerativos en las semillas (42).

### 2.3 Evaluación de la calidad de la semilla

La calidad de una semilla se puede evaluar desde cuatro puntos de vista: genético, físico, fisiológico y de sanidad (9,59).

#### 2.3.1 Calidad genética

Según Bustamante (9), es la que obtiene el fitomejorador, constituyendo un material genético de características sobresalientes tales como un mayor

rendimiento, calidad de producto, resistencia a plagas y enfermedades; así como su respuesta a condiciones ecológicas específicas, aplicación de fertilizantes y de plaguicidas (23). Por su parte García (24), considera a la calidad genética como un factor que corresponde a la fidelidad con que la semilla transmite las características genotípicas de la variedad tales como identidad genética y pureza varietal.

La calidad genética viene determinada por el genotipo de la variedad o híbrido y cuando una institución o el programa nacional de producción de semillas recomienda que una variedad pase a formar parte del programa de certificación, es porque ha cumplido con este requisito de calidad. Sin embargo el haberse obtenido no significa que la calidad de la semilla sea alta, pues es de poco valor si dicha semilla proveniente de una variedad altamente rendidora con gran adaptación y resistencia a enfermedades, no se encuentra sana, viva y capaz de producir plántulas normales y vigorosas (9).

### 2.3.2 Calidad física

Las características físicas de la semilla son factores de calidad muy importantes que deben ser considerados; así la pureza analítica nos indica el grado de contaminación física que existe pues el caso ideal es tener semilla pura. El peso de la semilla es otro indicador de la calidad, ya que un

cultivo sujeto a falta de nutrientes, daños por heladas o granizo lo verá reflejado en su peso volumétrico. El contenido de humedad es una característica de interés para el beneficiador y el almacenista de semillas, y constituye el factor principal en su conservación pues determinará si retiene su germinación desde la cosecha hasta la siembra (9,45).

### 2.3.3 Calidad fisiológica

La calidad fisiológica se refiere a la característica de viabilidad de una semilla, a la alta capacidad de germinación y vigor para establecer nuevos individuos; ya que como unidad biológica es susceptible de ser dañada y por consiguiente, su manejo desde la maduración hasta la siembra requiere de un alto grado de cuidado y especialización (9).

La calidad de las semillas es ampliamente reconocida como componente y resultado de un proceso productivo. También es un fenómeno dinámico y complejo, resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales a través del tiempo (10), y se caracteriza por la viabilidad y vigor de las mismas (42). Hernández (30), menciona que la capacidad de germinación y el vigor de las semillas esta relacionado con la calidad fisiológica; sin embargo, en los últimos años algunos investigadores y analistas de semillas han cuestionado las pruebas de germinación. No obstante Delouche

y Baskin (16), establecen que mientras no se pueda demostrar que una prueba de vigor reemplace completamente las pruebas de germinación, aquellas deberán aplicarse sólo como un complemento de éstas.

#### 2.3.4 Sanidad

La sanidad se refiere al hecho de que la semilla se encuentre libre de microorganismos ya que estos representan una seria amenaza para la producción de semillas de alta calidad. Los microorganismos más comunes de las semillas son hongos, bacterias y virus (9). Valadez (62), indica que aproximadamente el 90% de las enfermedades pueden afectar la calidad de las semillas durante su producción en campo o en almacén causando daños directos o indirectos; estas semillas enfermas representan posteriormente la fuente de inóculo primario el cual dará lugar a la dispersión del patógeno a través del aire, agua, insectos, por semilla infectada o mecánicamente. El mismo autor menciona que existen tres formas de asociación semilla patógeno: a) acompañamiento, mezclados con las semillas pero no unidos a ellas; b) transporte externo; y c) cuando son portados internamente en las semillas y pueden ser transmitidos a las plántulas.

Garay (23), menciona que para obtener semillas sanas es necesario cuidar los siguientes aspectos: 1) origen de la semilla; 2) zona de producción; 3) erradicación del inóculo; 4) control de vectores; 5) tratamiento de la semilla y 6)

almacenamiento.

## 2.4 Viabilidad

El concepto de viabilidad es muy amplio, definiéndose sólo como sinónimo de germinación, hasta la capacidad de producir una plántula aceptable en condiciones adversas; pero la condición general es que la semilla esté viva. La viabilidad de la semilla contiene estructuras y sustancias incluyendo un sistema de enzimas, las cuales tienen la capacidad de promover la germinación bajo condiciones favorables en ausencia de dormancia (12). En el caso contrario se dice que la semilla no es viable cuando en ella ocurrió un cambio degenerativo irreversible que generalmente representa su muerte (56).

Roberts (citado por Moreno 44,46), señala que la pérdida de la viabilidad de las semillas ha sido atribuida al efecto de factores intrínsecos y externos. Entre los primeros se encuentran los cambios ocasionados por la actividad fisiológica de la semilla, tales como la acumulación de metabolitos esenciales; los segundos comprenden a los hongos de almacén como los principales causantes de la pérdida de viabilidad de las semillas.

#### 2.4.1 Conceptos sobre germinación

Copeland (12), menciona que han sido propuestas varias definiciones sobre la germinación de la semilla, señalando que es importante entender la que proponen los fisiólogos, quienes definen la germinación como la emergencia de la radícula a través de la cubierta de la semilla. Para analistas de las semillas (Agency Official of Seed Analysis) (12,46), la germinación es descrita como "la emergencia y desarrollo de aquéllas estructuras esenciales que provienen del embrión y que por la especie de semilla en cuestión, es indicativo de la habilidad para producir plántulas normales bajo condiciones favorables". Hartman y Kester (29) indican que la germinación es la reanudación de crecimiento activo del embrión que resulta de la cubierta de la semilla y la emergencia de la planta joven. Para Bewley y Black (5), la germinación consiste de aquellos procesos que comienzan con la absorción del agua y que sucesivamente terminan con la emergencia de la radícula o hipocótilo a través de la cubierta de la semilla. Jann y Amen (citados por Martínez 39), enlistan definiciones para la germinación desde diferentes puntos de vista: Morfológica, que implica la transformación de un embrión a plántula; Fisiológica, como la reanudación del metabolismo y crecimiento que fue anteriormente reprimido o suspendido y la interrupción de la transcripción de nuevas porciones del programa genético; Bioquímico, que se refiere a la diferenciación secuencial de

vías oxidativas y sintéticas y la restauración de cambios bioquímicos típicos del crecimiento vegetativo y reproductivo. De acuerdo con Ruíz et al. (58), se llama germinación al fenómeno por el cual el embrión pasa del estado de vida latente en que se encuentra la semilla, a un estado de vida activa. En otras palabras, es el desarrollo y transformación del embrión en una nueva planta provista de clorofila y de los órganos necesarios para bastarse por sí sola.

2.4.1.1 Aspectos fisiológicos. Según Copeland (12), los principales eventos que ocurren en la germinación son los siguientes: a) imbibición de agua, b) activación enzimática, c) iniciación del crecimiento del embrión, d) ruptura de la cubierta seminal y emergencia de la plántula. De acuerdo con Ching (10), los procesos de germinación pueden ser divididos dentro de tres etapas distintas, sobreponiéndose e interactuando: 1) reactivación y conservación de sistemas para el período de maduración, 2) síntesis para actividades metabólicas principalmente en órganos de almacenamiento y 3) síntesis para actividades metabólicas en el embrión. El crecimiento implica tres componentes secuenciales, que son incremento en el tamaño de las células, el número de células y el grado de diferenciación. Hartman y Kester (29), también han dividido el proceso de germinación en tres estadios: primer estadio, que comprende la germinación o "despertar", el cual comienza con la absorción del agua o imbibición,

proceso que está determinado a su vez por tres factores: a) la composición de las semillas, b) la permeabilidad al agua por la cubierta de las semillas, c) la disponibilidad de agua en el ambiente; el segundo estadio de la germinación significa digestión y translocación, y el tercer estadio consiste en la división celular en los puntos de crecimiento separados del eje embrionario, seguida de la expansión de las estructuras de la planta.

2.4.1.2 Ensayo de germinación. La capacidad de germinación es el índice de calidad más usado y convincente; el objetivo de su evaluación es obtener información con respecto al valor de la semilla, con propósitos agrícolas, para producir plántulas normales y recabar información para hacer comparaciones del poder germinativo entre diferentes lotes de semillas de la misma especie, (9,45). La germinación en el laboratorio, es la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión y que manifiesta la habilidad de la semilla para producir una plántula normal bajo condiciones favorables de suelo (9).

Los métodos que se siguen para realizar esta prueba son los que recomiendan la ISTA (International Seed Testing Association) (33), donde se describen para los diferentes cultivos: 1) el tamaño de muestra, 2) los sustratos a utilizar, 3) las condiciones de luz, temperatura y humedad, 4) los tratamientos para vencer dormancia, 5) la duración de



las pruebas.

Para la semilla de frijol (Phaseolus vulgaris L.) se recomienda el tipo de sustrato entre papel (EP) y arena (A), la humedad relativa para la cámara de germinación de 90 a 95 % (lo mas cercano a la saturación), evitando el exceso de humedad en el papel; la temperatura entre los 20-30°C y se deberá hacer el primer conteo a los 5 días y el segundo a los 9 (45,33).

Al realizar la prueba de germinación, los resultados deberán plasmarse en porciento de germinación, que indique la proporción por número de semillas que pueden producir plántulas, bajo condiciones normales dentro del período especificado, así como el tipo de plántula producida; normal o anormal y el tipo de semilla sin germinar; los criterios a seguir para tal clasificación están dados por la ISTA (33), e incluye para especies en particular, una diferenciación clara del tipo de plántulas.

Sin embargo genéricamente se considera que son plántulas normales aquellas que poseen las estructuras esenciales para continuar un desarrollo satisfactorio hasta plantas, cuando crecen en suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. En este contexto Moreno (45) considera como plantas normales las siguientes: a) plántulas intactas, plántulas con todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas en proporción y

sanas; b) plántulas con pequeños defectos en sus estructuras esenciales, pero que muestren un desarrollo satisfactorio balanceado comparable con las plántulas intactas de la misma prueba. Como plántulas anormales aquellas que no presentan el desarrollo potencial de una plántula normal cuando crecen en suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad y luz. Se clasifican como anormales las siguientes:

a) plántulas con algunas de las estructuras esenciales ausentes o más o menos dañadas y daños irreparables, cuyo desarrollo normal no puede ser esperado, b) plántulas deformes o desequilibradas, con débil desarrollo o trastornos fisiológicos o estructuras esenciales deformadas o ausentes de proporción y c) plántulas podridas completamente o plantas con alguna de sus estructuras esenciales más o menos enfermas o podridas (de origen en la semilla) que impide el desarrollo normal.

Finalmente semillas sin germinar, son las que no germinan al final del período de prueba aún bajo condiciones favorables las que a su vez se clasifican como: a) semillas duras, las que permanecen duras al final del período de prueba porque no pudieron absorber agua; b) semillas frescas (latentes) aquellas que no son duras, ni pueden germinar; sólo permanecen limpias y aparentemente viables al final del período de prueba, c) semillas muertas las que al final del período de prueba no son duras, ni frescas, ni pueden producir alguna parte de la plántula y d) otras categorías

dentro de las que se pueden incluir semillas vacías y sin germinar y que se consideran como una categoría adicional acordada.

## 2.5 Vigor de semilla

### 2.5.1 Concepto e importancia

De acuerdo con Ching (10), el vigor de la semilla puede definirse como un potencial para una rápida y uniforme germinación así como firme crecimiento de plántulas bajo condiciones generales de campo. La AOSA ha definido al vigor como "aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para una rápida y uniforme emergencia y desarrollo normal de plántula bajo un amplio rango de condiciones de campo".

Se considera que el vigor de la semilla es una característica de especial interés en la producción moderna de semillas. Por primera vez en 1950 y durante el Congreso Internacional de Pruebas de Semillas, surgió el término vigor, mediante una sugerencia de Franck (citado por Perry, 49). El concepto fue utilizado durante mucho tiempo como sinónimo de energía de germinación o vitalidad de las semillas. Después de varios intentos por definir el vigor de las semillas la ISTA (33) adoptó la siguiente definición: "El vigor de la semilla es la suma total de aquellas propiedades

de la semilla que determina el nivel de actividades y capacidad de la semilla o del lote de semillas durante la germinación y emergencia de la plántula". Las semillas de buen comportamiento son consideradas como de alto vigor y las de malo de bajo vigor.

El vigor de las semillas es un indicador de su calidad más allá de la germinación y se refiere a la completa habilidad de éstas para funcionar bajo condiciones de campo. Los métodos que siguen, son pruebas de laboratorio para distinguir semillas de diferentes niveles de vigor y proporcionan información sobre el nivel de emergencia que se espera en el campo (9).

El vigor puede estar relacionado con: a) procesos y reacciones bioquímicas durante la germinación, como son reacciones enzimáticas y actividad respiratoria, b) velocidad y uniformidad de la germinación de las semillas y del crecimiento de las plántulas y crecimiento en campo, c) velocidad y uniformidad de emergencia de las plántulas bajo condiciones ambientales desfavorables, e) desarrollo morfológico normal de las plantas, f) producción y g) capacidad adecuada de almacenamiento bajo condiciones óptimas y adversas (12,46,49).

Delouche y Cadwell (citados por Espinosa, 20), consideran que el vigor de la semilla, es dentro de los factores de calidad, el más importante, ya que está estrechamente relacionado con una germinación más rápida y uniforme, así como con plántulas más vigorosas que subsecuentemente tendrán mayor capacidad de competencia esperándose que esta característica se refleje en el rendimiento. Moreno (45), dice que el vigor es igualmente de valor para comparar el potencial biológico de lotes de semillas con porcentos de germinación similares y también para tomar decisiones sobre el tiempo de almacenaje al que pueden ser sometidas las semillas ya que se ha visto que el vigor y la longevidad están altamente correlacionados.

Recientemente, diversos autores han estado manejando el término invigoración de semillas deterioradas desde varios puntos de vista. Uno de ellos se relaciona con el preacondicionamiento de semillas secas en humedad por un determinado tiempo, esto permite que la semilla repare los procesos celulares que a su vez se relacionan con altos niveles de ARN y síntesis de proteínas dando por resultado incrementos en germinación, lo que normalmente no ocurriría si ésta misma semilla se pusiera a germinar en una prueba estandar de germinación (32,48,52,60).

#### 2.5.2 Evaluación del vigor

Para Moreno (44), evaluar el vigor de la semilla es de

- Velocidad de germinación Se determinó tomando en cuenta el número de plántulas normales registradas a los 10 días de iniciada la prueba y expresado en porcentaje.

### 3.7 Análisis estadístico

En relación a la PEA, el análisis de varianza tanto para los datos de laboratorio como invernadero se realizó tomando en cuenta las consideraciones indicadas en el desarrollo de la prueba en relación a las tres fechas realizadas, de tal forma, que en dicho análisis se incluyo la fuente de variación fecha, así como algunas interacciones.

Por lo que se refiere a las PCA y PAC, el análisis de varianza se realizo de acuerdo al diseño de tratamientos en arreglo factorial  $4 \times 7$ , en sus cuatro repeticiones.

Asimismo, otros análisis estadísticos complementarios que se llevaron a cabo para las tres pruebas y ambiente fueron la comparación de medias mediante Tukey (DMSH) al 5% de probabilidad.

Se utilizó la transformación angular o arcoseno  $\sqrt{x}$  para el análisis de varianza en los datos de germinación de la PEA, (38).

gran valor para predecir el comportamiento de un lote de semillas cuando las condiciones del medio ambiente no son del todo favorables para la germinación y emergencia de las plántulas. Una prueba de vigor puede proporcionar un resultado reproducible que puede estar más estrechamente relacionado con el comportamiento de la semilla en el campo bajo ciertas condiciones, que las mismas pruebas de germinación. En la actualidad existen pruebas tanto de campo como de laboratorio para evaluar el vigor de las semillas (50), que de manera general se dividen en pruebas directas e indirectas.

2.5.2.1 Pruebas directas En las pruebas directas, los factores de estrés que se espera reduzcan la emergencia en el campo se establecen en el laboratorio bajo condiciones controladas (50). Villaseñor (63), señala que estas pruebas se caracterizan en que la evaluación de vigor se hace una vez que la semilla ha germinado, dando a la semilla condiciones favorables de germinación, en unos casos, o condiciones desfavorables para otros; estas pruebas pueden ser realizadas bajo condiciones de campo o laboratorio. Entre las pruebas más comunes se tienen las siguientes: prueba de frío, prueba de velocidad de germinación, primer conteo de emergencia, ladrillo molido (Prueba de Hiltner), prueba de metanol, polietilenglicol, y prueba de envejecimiento acelerado (50). Kulik y Yaklich (37), evaluaron diferentes pruebas de vigor en soya, dentro de las que incluyeron a la prueba de

envejecimiento acelerado y prueba de frío. Compararon el comportamiento de tales pruebas desde el punto de vista de velocidad de germinación, y coincidieron en señalar la gran utilidad de dichas pruebas para predecir el comportamiento de lotes de semilla en establecimiento en campo. Por su parte en semillas de varias hortalizas Powell y Matthews (51), evaluaron deterioro controlado usando agua a 45°C por 24 horas, como prueba de vigor. Ellos señalan la necesidad de adquirir experiencia en pruebas de este tipo antes de usarla como prueba de vigor rutinaria, ya que el contenido de humedad inicial de la semilla juega un papel determinante en el deterioro. Así también Musgrave *et al.* (47), utilizaron el metanol como prueba de vigor en semilla de chícharo y soya comparando su respuesta con la prueba de envejecimiento acelerado. Ellos concluyeron que el metanol es útil como: prueba de vigor en esta especie y es una alternativa como prueba rápida de evaluación de vigor y recalca su utilidad en estudios de tipo fisiológico, por lo fácil y rápido de su implementación y debido a que no permite el desarrollo de hongos.

Por otro lado, como resultado de un estudio en condiciones con alta presión osmótica, Hadas (25) sugiere el uso de polietilenglicol como un método simple de evaluación de vigor en semillas de garbanzo tratando de simular las condiciones naturales de estrés a que se somete esta especie cuando se siembra en campo. Sugiere la utilización de otras



especies mediante la variación de los potenciales osmóticos.

La prueba de envejecimiento acelerado, fue desarrollada por Presley (1958) (citado por Furbeck 22), la cual Furbeck *et al.* (16) usaron como medio para predecir la almacenabilidad de varios lotes de semillas. La prueba según Copeland (12), trata de medir la supervivencia de la semilla después de un envejecimiento acelerado ya que este tratamiento es similar a lo que ocurre en la práctica bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento. Como su nombre lo indica, la prueba consiste en someter semillas a condiciones de envejecimiento acelerado mediante humedad relativa (H.R.) y temperaturas altas durante un determinado tiempo. Copeland (12) indica que la semilla debe someterse a 40 o 45°C y 100% de H.R. durante 2 a 8 días o 30°C y 75% de H.R. durante 2 a 18 semanas, lo cual dependerá de la especie. La mayor desventaja de esta técnica es la longitud de tiempo requerido para la aplicación del tratamiento así como también es frecuente que las semillas expuestas a este tratamiento desarrollan crecimiento de hongos; además de restringir el número de muestras que pueden ser tratadas y probadas en un período de tiempo dado (7,22).

Existen otras pruebas de estrés que pueden considerarse como de tipo directo. Al respecto Delouche y Baskin (16), citan que la inmersión en cloruro de amonio tiene el mismo propósito que la prueba de envejecimiento acelerado. Esta

consiste en someter a las semillas en una solución de cloruro de amonio a diferentes concentraciones y a temperaturas de 40°C por diversos tiempos de aplicación. Esta técnica es una alternativa de uso en especies de semillas que no pueden ser sometidas a la prueba de envejecimiento acelerado por lo severo del tratamiento. Según Delouche *et al.* (citados por Duarte y Molina 17,42) una hipótesis del efecto de tratamientos de inmersión en éste producto químico es que la permeabilidad de la membrana aumenta y con ello incrementa la deterioración. Asimismo, en un período de tiempo dado, el material fitotóxico es más absorbido por las semillas deterioradas que por las semillas no deterioradas.

Consecuentemente, la germinación de las semillas deterioradas es más reducida por el tratamiento de inmersión que las semillas no deterioradas. Esta prueba envuelve la inmersión de semillas en soluciones de sales por períodos específicos, después del cual ellas mismas son sometidas a pruebas de germinación. Estos autores también resaltan que lotes de semillas son afectados de manera diferente por los tratamientos de inmersión y que en general, las respuestas de germinación encontradas en inmersión de semillas en cloruro de amonio son similares a aquellas observadas después de intervalos de almacenamiento. Asimismo, una inmersión en cloruro de amonio posibilita la predicción del potencial de almacenamiento de lotes de semillas de modo semejante a la prueba de envejecimiento acelerado.

Statori, (citada por Duarte 17), estudiando la conservación de semillas de frijol, utilizó las pruebas de germinación, crecimiento de raíz, tetrazolio, inmersión en cloruro de amonio al 1% por 1 hora, a 40°C y envejecimiento acelerado, para evaluar el deterioro durante el almacenamiento de las semillas. Concluyó que la prueba de envejecimiento acelerado fue la más eficaz para predecir el almacenamiento de las semillas, y que por otro lado la prueba de inmersión en cloruro de amonio también fue un eficiente indicador del proceso de deterioración. A su vez Copeland (12), menciona que la prueba de cloruro de amonio al 1% durante 30 minutos, fue la que mejor evaluó la calidad, pues permitió la mejor separación de niveles de vigor en semillas de frijol. Abdullahi y Vanderlip (2), mostraron que las pruebas de vigor; envejecimiento acelerado, prueba de frío en suelo, inmersión en cloruro de amonio y germinación normal en sorgo, presentaron correlaciones significativas con el establecimiento de plántulas en campo, siendo el cloruro de amonio el que tuvo la mejor correlación.

Otra técnica que ha sido utilizada por Kueneman (36), es el someter a la semilla a tratamientos de estrés en agua caliente. En este caso se sumergen las semillas por 70 segundos en agua caliente, a 75°C y al sacarlas, inmediatamente se introducen en agua a 25°C por un minuto. Battacharyya et al. (4), realizaron experimentos con fines de selección en semillas de trigo utilizando la técnica de

estrés en agua caliente, en donde las semillas fueron sumergidas por diferente espacio de tiempo a 58°C con el fin de someterlas a un envejecimiento acelerado; por este método lograron obtener una amplia gama de lotes de semilla con viabilidad diferente. Los porcentajes de germinación de semillas envejecidas por este procedimiento son comparables a las semillas envejecidas naturalmente. La inducción de envejecimiento mediante algunos tratamientos de corta duración ofrecen ventajas útiles sobre otros métodos de envejecimiento, por minimizar el tiempo empleado en la preparación de las pruebas y por reducir el tiempo de incubación de la microflora (hongos) llevada en la superficie de las semillas, durante los tratamientos de envejecimiento; los que ocasionan problemas de interpretación sobre las diferencias de vigor entre semillas.

El uso de agua caliente ha sido muy practicado en termoterapia para el control de algunos problemas patogénicos en semillas de diversos cultivos, entre ellos el frijol (42). En relación con el vigor de semillas, el uso de agua caliente ha sido reportada (32) como una de las técnicas a las que podrían ser sometidas las semillas y a su respuesta relacionada con el vigor (42).

De acuerdo con Furbeck *et al.* (22), la técnica de agua caliente se desarrolló como una alternativa del envejecimiento acelerado para la deterioración rápida en

semillas de algodón. Hourlad y Welch (citados por el mismo autor), sugieren que la inmersión de las semillas en agua caliente (50°C) debe deteriorar las semillas más rápida y uniformemente que el deterioro que se dá en la prueba de envejecimiento acelerado, cuando se requiere predecir la longevidad de semillas en el almacén.

Furbeck, et al. (22), compararon la prueba de agua caliente y la de envejecimiento acelerado como técnicas de deterioro en semilla de algodón, observando consistencia en cuanto a deterioro a medida que se incrementó el tiempo de inmersión en agua caliente; asimismo notaron que el porcentaje de emergencia de plántulas tuvo un comportamiento similar en ambas pruebas y en general la significancia del resto de variables medidas fue mayor en la prueba de agua caliente. Por otro lado, en diferentes lotes de semilla de trigo de invierno Rennie y Tomlin (54), compararon varias pruebas de vigor a nivel de laboratorio y en ellos incluyeron estrés por agua y envejecimiento. De acuerdo con sus resultados de correlación entre todas las pruebas, señalan que la prueba de estrés por agua está estrechamente relacionada con el envejecimiento artificial de semilla con altas temperatura y humedad relativa.

2.5.2.2 Pruebas indirectas Los ensayos indirectos son aquellos en que la característica de la semilla medida en el laboratorio se compara con su comportamiento en campo, (50).

Este tipo de pruebas son más sofisticadas que las directas, ya que por lo general requieren de aparatos especializados o sustancias que no se consiguen fácilmente; el nombre de indirectas se debe a que la evaluación de vigor se realiza sobre la semilla, antes de que se inicie la germinación. Dentro de las más comunes tenemos: la prueba de tetrazolio, prueba de la tasa de respiración, prueba de conductividad eléctrica y prueba de cambios de permeabilidad (63).

## 2.6 Conservación de semillas durante el almacenamiento

Según Moreno (44), el período de almacenamiento es un factor muy importante en la conservación de productos agrícolas. Los períodos de almacenamiento se deben iniciar con el conocimiento de la condición de los granos y semillas, de su posible destino (alimento para animales o humanos, para la industria o como simiente agrícola) y del tiempo que van a permanecer en los silos o bodegas.

Las condiciones de almacenamiento que mantienen la viabilidad de las semillas son aquellos que hacen más lentos la respiración y otros procesos metabólicos sin dañar al embrión. Las condiciones más importantes para lograr esto, son un contenido reducido de humedad en las semillas, temperatura de almacenamiento baja y modificación de la atmósfera de almacenamiento. De éstas las relaciones de

temperatura-humedad son las de mayor significado práctico (29).

En el almacenamiento de los granos y semillas Ramírez y Arias (citados por Rodríguez 57), consideran que su conservación en el almacén depende de los siguientes factores: 1) la ecología de la región considerada; 2) el tipo de almacén utilizado; 3) característica del producto (tipo y condición del producto); 4) duración del almacenamiento; 5) presencia de agentes biológicos (insectos, hongos, roedores). Delouche y Baskin (16), mencionan que la capacidad de almacenamiento, esta determinada por el genotipo y la edad de la semilla, las condiciones ambientales y el nivel de deterioro al momento de entrar al almacén; la pérdida de esta capacidad, la disminución de la germinación y el vigor, así como el incremento de plántulas anormales son consecuencia directa del deterioro.

#### 2.6.1 Cambios asociados con el deterioro

El deterioro de la semilla se refiere a cualquier cambio degenerativo irreversible después de que ésta ha alcanzado su máximo nivel de calidad (1). El deterioro durante el almacenamiento es inducido por una alta temperatura y una alta humedad relativa, lo que influye en el desgaste de la semilla al existir una actividad interna mayor con la respiración y el consumo de su energía. De acuerdo con

Harrington (27), es muy poco lo que se conoce sobre la fisiología y bioquímica del envejecimiento (deterioro) de las semillas. Menciona que un buen número de investigadores han encontrado que la desintegración cromosómica es la causa de la senescencia; otros efectos de deterioro característico son una pérdida de la activación de respiración y un incremento en la permeabilidad de la membrana.

Savino et al (60) reporta que la deterioración de la semilla durante el secado antes del almacenamiento produce daños a las membranas, enzimas, factores enzimáticos, y acumulación de ácidos nucleicos. Con el tiempo los cambios degenerativos resultan en la desorganización completa de las membranas y organelos celulares, causando la liberación de enzimas hidrolíticas lo que aumenta el daño y se induce una completa pérdida de la germinación.

Entre las manifestaciones fisiológicas de deterioro se pueden mencionar los cambios de color de la semilla, retraso de la germinación, disminución de su capacidad de tolerancia a las condiciones adversas durante la germinación, reducido crecimiento de plántula, reducción en la capacidad de germinación, aumento del número de plántulas anormales y aumento de la susceptibilidad a invasión de hongos (1).



## 2.6.2 Factores que afectan la longevidad de semillas

La longevidad de la semilla comprende el período que transcurre desde la formación hasta la muerte de la misma (19), la duración de este período dependerá de las condiciones que prevalezcan durante esa etapa vital de la semilla (55). Ruíz *et al.* (58), mencionan que la longevidad de las semillas o sea el tiempo de vida latente y con poder germinativo, es muy variable y depende de diversas circunstancias como la especie de planta a que pertenezcan la semillas, los tipos de reservas que posean las mismas y del sitio en que se encuentren al salir del fruto.

De acuerdo con algunos autores, la longevidad de las semillas está influenciada por diversos factores; como la temperatura durante la maduración de la semilla y el almacenamiento, la humedad relativa, el contenido de humedad de la semilla (22,30,35), el tiempo de almacenamiento, especie, cultivar (35); condiciones en que se realiza la cosecha, daño mecánico, enfermedades e insectos dañinos (27,35); nutrición de la planta madre (27); madurez fisiológica, tamaño de la semilla (3) y constitución genética (49). Así dependiendo de las condiciones de almacenamiento que se le otorgue a la semilla, se podrá variar su longevidad de un día a más de cien años (27).

2.6.2.1 Factores genéticos. La longevidad de la semilla ha sido objeto de diversos estudios que buscan la explicación de las diferencias encontradas de viabilidad en diversos materiales genéticos (55). Muchos investigadores han observado que existen diferencias en la longevidad en diferentes especies y aún dentro de una misma especie (34), reportando así, que la longevidad es una característica heredable (34,46).

Copeland (12), recalca que el genotipo determina el vigor de la semilla y por lo tanto su capacidad de almacenamiento y que existen diferencias en cuanto a esta característica entre especies, variedades, e incluso dentro de variedades; menciona que en la comparación de líneas de maíz de igual tamaño de semilla existe diferente expresión de vigor en estado de plántula. Por otra parte, dentro de la constitución genética también considera la maduración a la cosecha y tamaño de la semilla como factores importantes.

Lindstrom y Harrison (citados por Minor y Paschal 41), trabajando con maíz y lechuga respectivamente, sugieren que los diferentes genotipos dentro de estas especies pueden tener diferentes características de almacenamiento; asimismo Lindstrom y Shadivan (citados por James 34), en maíz y arroz reportan que al cruzar semillas de híbridos y variedades de vida corta con semillas de vida larga, predomina la presencia

de semillas de vida larga, indicando esto la dominancia de la longevidad.

Kueneman (36), concluye por su parte, en un estudio de cruza recíprocas en soya que: a) el genoma de la planta madre puede influenciar la longevidad de la semilla, b) la acción génico-citoplásmica puede también estar involucrada pero con efectos pequeños probablemente y c) el genotipo de la semilla puede estar involucrada en un menor grado también en la determinación de la longevidad de la semilla.

2.6.2.2 Factores de producción. Los factores ambientales que prevalecen durante el desarrollo de la planta como temperatura y humedad relativa (H.R.) lluvias, enfermedades, plagas, radiación, heladas, además de fertilización, afectan la longevidad de la semilla (3,26).

Las lluvias pueden ocasionar daños que después se manifiestan en semillas con poco vigor (29); el deterioro de las semillas se inicia en el campo y entre más tardía es la cosecha más son las posibilidades de daño (15), debido a que la semilla después de madurar y permanecer por algún tiempo en el campo, pueden presentar problemas de bajo vigor (55); por el contrario si la semilla se cosecha cuando el embrión aún no ha alcanzado un desarrollo suficiente, es posible que la semilla resulte delgada, de poco peso, arrugada y su capacidad germinativa será muy variable; además de que no

tendrán buena capacidad de almacenamiento; asimismo serán muy heterogéneas con respecto a la viabilidad. El fertilizar en el momento oportuno, da como consecuencia un mejoramiento en la calidad de la semilla.

El daño mecánico ocasionado durante la cosecha, el secado, el beneficio y en general durante todo el manipuleo de la semilla, es otro de los factores que determinan la longevidad de la misma (43), pues esos daños aceleran el proceso de deterioro y por consiguiente la pérdida de la capacidad de almacenamiento (10).

2.6.2.3 Composición de la semilla. La composición química de las semillas varía según la especie, encontrando que todas ellas contienen carbohidratos, proteínas, grasas y minerales que nutren al embrión; la diferencia esta dada por la cantidad de cada uno de ellos, por lo que se puede hacer una distinción, según sea su contenido principal en: amiláceas, oleaginosas y corneas o celulósicas (6,8). De acuerdo con la variación en la composición química de la semilla se ha sugerido que existe una relación entre ésta y la capacidad de almacenamiento (55).

Crocker y Barton (13), mencionan que la composición química de las semillas esta determinada por su constitución genética, pero también el ambiente y las prácticas culturales influyen en su composición (13,55). Bajo condiciones de

almacenamiento el contenido químico varía, por ejemplo las proteínas absorben mayor cantidad de humedad que el almidón y la celulosa, en tanto que los lípidos no absorben agua: por lo tanto bajo la misma humedad relativa, las semillas oleaginosas contendrán menor cantidad de agua que las amiláceas (28).

2.6.2.4 Ambiente de almacén. Entre los factores que influyen en el deterioro de la semilla durante el almacenamiento, se encuentran la humedad relativa, la temperatura del almacén (3,29), el tiempo de almacenamiento y la composición gaseosa del ambiente, así como el contenido de humedad de la semilla. De estas las relaciones temperatura-humedad son las de mayor importancia (29). Otro factor que incide de manera importante en el deterioro de las semillas son los hongos de almacén los que a su vez están muy ligados a la humedad del almacén y la semilla (44).

Las semillas deben estar secas para sobrevivir a períodos largos de almacenamiento, teniendo que un contenido de humedad del 4 al 6% es favorable para un período prolongado de almacenamiento (13). Bass (3), menciona que las semillas tienen una absorción diferencial de agua de acuerdo con la especie cuando son almacenadas bajo condiciones idénticas. Cada especie tiene su propio equilibrio en el contenido de humedad por una temperatura y una humedad relativa dadas. Por lo que cada especie de semilla parece

tener sus propios requerimientos específicos para un almacenamiento seguro.

Toole y Toole, (citados por Bass 3), indican que la semilla de frijol se conserva sin cambios en la viabilidad durante cuatro años en una temperatura de 17°C y 35% de H.R. En la actualidad, con ecuaciones de predicción para genotipos específicos, es posible conocer la viabilidad de semillas después de cierto tiempo de almacenamiento, sobre una amplia gama de condiciones ambientales; y el almacenamiento para muy largos períodos es posible a bajas temperaturas y contenidos de humedad (56).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Ensayo preliminar

Con el fin de definir la especie y los niveles de tratamientos en las pruebas de envejecimiento acelerado, cloruro de amonio y agua caliente, así como definir el tamaño de muestra y conocer un poco más las diferentes metodologías, se realizaron ensayos preliminares en semillas de tres especies; alfalfa (Var. Aragón), cebolla (Var. Santa Cruz) y frijol (Var. Bayomex), utilizando en todas ellas un tamaño de semilla uniforme.

El tamaño de muestra manejado en la prueba de cloruro de amonio (PCA) y prueba de envejecimiento acelerado (PEA) fue de 25 semillas, con dos repeticiones por tratamiento y para la prueba de agua caliente (PAC) se tuvieron cuatro repeticiones con el mismo tamaño de muestra por tratamiento.

1. Prueba de cloruro de amonio (PCA). En alfalfa se utilizaron 19 tratamientos formados de la combinación de las concentraciones 1 y 2%, temperaturas de 35 y 40 °C y los tiempos de inmersión de 1, 2, 3 y 4 horas. Esta especie no se evaluó en las dos pruebas restantes. En la semilla de cebolla, se probaron 47 tratamientos en los que se usaron concentraciones de 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0% con tiempos de

inmersión de 1, 2, 3 y 4 horas; así como tres tratamientos de agua destilada solamente y usando tiempos de inmersión de 1 y 4 horas a temperaturas de 35 y 40 °C.

En frijol, se trabajó con 29 tratamientos y las concentraciones empleadas fueron de 1.5 y 2.0% con tiempo de inmersión de 1, 2, 3 y 4 horas; concentraciones de 2.5 y 3.0% por 2 y 3 horas y tratamientos adicionales incluyendo sólo agua destilada y con tiempos de inmersión de 1, 2, 3 y 4 horas a 35 y 40° C de temperatura.

2. Prueba de agua caliente (PAC). En la semilla de cebolla se evaluaron 10 tratamientos donde el tiempo de inmersión fue de 40 y 120 segundos y las temperaturas de 70 75 y 80 °C.

En frijol se ensayaron 16 tratamientos con tiempos de inmersión de 75, 90, 105, 120 y 135 segundos y temperaturas de 70, 75, y 80 °C.

3. Prueba de envejecimiento acelerado (PEA). Sólo se practicó en la semilla de frijol ensayando 3 tratamientos, en los que se emplearon tiempos de 2, 3, 4 y 5 días, bajo condiciones de alta temperatura (40 °C) y humedad relativa del 100%.

Para la evaluación del efecto de los tratamientos se realizaron ensayos de germinación en laboratorio, utilizando el método entre papel en frijol, y caja petri con papel



filtro en cebolla y alfalfa, según recomendaciones de ISTA (33).

Los resultados mostraron que sí hubo una reducción en el porcentaje de germinación de las especies utilizadas en las diferentes pruebas. En agua caliente la germinación bajó entre 49 y 100% en cebolla, y en frijol se redujo un 40%. Los diferentes tratamientos a base de cloruro de amonio aunque en menor grado, también ocasionaron deterioro en las semillas utilizadas observandose un 36% de reducción en cebolla y desde un 8 hasta 100% en frijol. En el caso de alfalfa, sólo se observó deterioro en los tratamientos de mayor nivel de estrés por cloruro de amonio. Sin embargo la tendencia no fue muy clara.

### 3.2 Ubicación del experimento

El presente trabajo se llevo a cabo, en el laboratorio e invernadero de la Sección de Producción de Semillas del Centro de Genética del Colegio de Postgraduados en Montecillo, México.

### 3.3 Material genético

El material genético empleado, consistió de siete variedades de frijol (Cuadro 1), las cuales fueron proporcionadas por el Programa de Producción de Semillas del Centro de Genética del Colegio de Postgraduados y por el

Cuadro 1. Descripción del material genético utilizado.

Variedad	Origen	Tamaño 1/	Características	
			Dureza	Color
Pinto Americano	Mont 88	Medio	Intermedio	Jaspeado
Bayo Mecentral	CH 88	Medio	Suave	Amarillo
California S W	CH 88	Chico	Suave	Blanco
Negro Puebla	CH 88	Medio	Intermedio	Negro
Flor de Mayo de G	Mont 88	Medio	Suave	J. rosa
Pinto Texcoco	Mont 88	Grande	Duro	J. morado
Pinto Zarco	Mont 89	Medio	Duro	J. blanco

1/ Tamaño de semilla en cada variedad, después de cribar el material.

2/ Comunicación personal: M. C. Albino Campos Escudero.  
Programa de Frijol del CEVAMEX

Programa de Frijol perteneciente al Centro de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias del Estado de México (CIFAP).

Cada variedad se limpio y seleccionó mecánicamente en una máquina de aire y zarandas de laboratorio, utilizando tres tamaños de cribas. Para el trabajo se eligió, la semilla chica para la variedad California Small White, la semilla grande para la variedad Pinto Texcoco y la semilla mediana para las variedades restantes. La utilización de uno u otro tamaño se determinó en base a la cantidad de semilla

disponible por cada tamaño y por variedad, a fin de completar la cantidad necesaria tanto para laboratorio como invernadero. El tamaño de semillas entre variedades no es un factor que provoque variación en la aplicación de las pruebas, ya que por características propias de las variedades utilizadas, el tamaño y forma de las mismas son diferentes entre sí; como es el caso de la variedad California Small White que es de semilla más pequeña. Posteriormente se seleccionaron las semillas que no presentaban daño mecánico o por insectos u hongos y se prepararon sobres con 400 semillas por tratamientos en todas las variedades, con la ayuda de un contador electrónico marca Seedburo.

### 3.4 Pruebas de vigor

Se compararon tres pruebas de vigor que fueron: prueba de envejecimiento acelerado, prueba de cloruro de amonio y prueba de agua caliente.

Los tratamientos utilizados en cada una se indican en el Cuadro 2.

#### 3.4.1 Prueba de envejecimiento acelerado (PEA)

Desarrollo de la prueba. La metodología que se consideró en esta prueba tanto en los experimentos preliminares como en el definitivo, fue similar a la que sugieren McDonald y Phaneedramath (40).

**Cuadro 2.** Descripción de tratamientos utilizados en cada una de las pruebas de vigor

Envejecimiento No. de Trat.	Acelerado 1		Cloruro de Amonio 2			Agua Caliente 3	
	Tiempo (h)	No. de Trat.	Conc. (%)	Tiempo (h)	No. de Trat.	Tiempo de Inn. (seg)	
1	72	1	1	3	1	90	
2	96	2	2	2	2	105	
3	120	3	3	2	3	135	
4	132	Testigo	0	0	Testigo	0	
Testigo	0	0	0	0	0	0	

1 Temperatura constante de 40°C y 100% de humedad relativa (HR)

2 Temperatura de la cámara de incubación de 40°C

3 Temperatura constante del agua a 80°C

Para acondicionar la cámara de envejecimiento acelerado y proporcionar el microambiente adecuado, se utilizaron cajas de mica tipo sandwichera de 11 x 11 x 4, a las que se les colocó una malla galvanizada de 5 mm y a cada caja se le agregó 80 ml de agua destilada. Las semillas se colocaron sobre la malla dentro de las cajas cuidando de no mojarlas y en seguida se sellaron con cinta adhesiva para evitar una posible condensación; luego se identificaron con el número de parcela y tratamiento respectivo. Una vez preparadas las cajas se colocaron en forma aleatoria en una germinadora de ambiente controlado marca Cleland International 1000 FAATR, la cual se calibró con anticipación a 40° C manteniendo esta temperatura durante todo el tiempo que permaneció ésta prueba.

La manera como se implementaron los tratamientos que se mencionan en el Cuadro 2 para laboratorio e invernadero, fueron considerando para su aplicación tres fechas diferentes debido a la cantidad de trabajo y espacio disponible así como por la naturaleza de las variables involucradas y finalmente por la necesidad de un espacio de exploración en cuanto a efecto de los tratamientos de envejecimiento.

La primera fecha de aplicación de tratamientos abarcó las repeticiones 1 y 2 de los tratamientos 1, 2 y 3, y la segunda fecha las repeticiones 3 y 4 de los mismos

tratamientos; en la tercera fecha sólo se incluyó un cuarto tratamiento con sus cuatro repeticiones; en cada fecha se incluyeron los respectivos testigos.

#### 3.4.2 Prueba de cloruro de amonio (PCA)

Desarrollo de la prueba. Para la aplicación de los tratamientos se utilizaron cajas tipo sandwichero agregando 80 ml de agua destilada en donde se disolvieron las diferentes concentraciones. Las semillas se sumergieron dentro de la solución, para luego colocarlas en forma aleatoria dentro de una estufa, previamente calibrada a 40 °C y mantenida así según el tiempo de inmersión correspondiente.

Después de que las semillas se sacaron de la estufa se enjuagaron con agua destilada para eliminar en su totalidad los residuos de sales. En seguida se colocaron en toallas de papel, dejándolas secar en la sombra a temperatura ambiente durante 24 horas.

#### 3.4.3 Prueba de agua caliente (PAC)

Desarrollo de la prueba. Las semillas se colocaron en pequeñas bolsas de malla de nylon y se sumergieron en agua caliente a 80 °C, durante el tiempo correspondiente al tratamiento; después de esto las semillas se sumergieron inmediatamente en agua a 25 °C, manteniéndolas ahí por un

minuto. Al finalizar los tiempos de cada tratamiento las semillas se sacaron y se colocaron sobre toallas de papel, dejandolas secar a la sombra y a temperatura ambiente durante 24 horas.

### 3.5 Evaluación de los tratamientos

#### 3.5.1 Ensayo de laboratorio

Para la evaluación en esta condición se realizó la prueba de germinación estandar en laboratorio, utilizando el método entre papel recomendado por el ISTA (33) para las tres pruebas. Este consistió en colocar las semillas entre hojas de papel humedecidas, evitando el exceso de humedad y enrollandolas en forma de "taco" para luego colocarlas en bolsas de plástico en posición vertical dentro de la cámara germinadora a una temperatura de 25 °C.

Diseño y unidad experimental. La evaluación de los tratamientos provenientes de las tres pruebas de vigor incluyendo al testigo, estuvieron bajo un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones.

La unidad experimental consistió de 50 semillas de las cuales se formaron 2 "tacos" de 25 semillas cada uno por tratamiento. En el caso de la fecha tres para la prueba de envejecimiento acelerado la unidad experimental consistió de

un "taco" de 25 semillas por tratamiento, en virtud de la poca disponibilidad de semilla.

Tamaño de la muestra. El tamaño de la muestra para laboratorio en las pruebas de cloruro de amonio y de agua caliente fue de 112 sobres con 50 semillas cada uno, los cuales al dividirse en tacos de 25 semillas hicieron un total de 224, incluyendo el testigo.

En el caso de la prueba de envejecimiento acelerado en la fecha 1 y 2 la muestra fue de 98 sobres con 50 semillas cada una constituyendo en total 196 tacos de 25 semillas. En la fecha 3 el tamaño fue de 25 sobres, de 25 semillas.

### 3.5.2 Ensayo de invernadero

Para la evaluación de los tratamientos provenientes de las pruebas bajo condiciones de arena se utilizó un bastidor de madera de 4.72 x 1.20 m. El sustrato empleado fue arena de río cernida llenando el bastidor a un nivel de 15 cm y colocando las semillas en hilera y en una misma posición según el diseño experimental, por variedad y tratamiento; la siembra se hizo dejando aproximadamente 2 cm entre semillas y 4 cm entre hileras. Las repeticiones quedaron separadas a 8 cm.

En la fecha 3 para envejecimiento acelerado y en virtud de la poca semilla disponible, se colocaron sólo 25 semillas



dejando un espacio de 4 cm entre semillas y entre hileras y 8 cm entre repeticiones. Posteriormente se cubrieron con una capa de arena de 3 cm y se aplicó riego diariamente de manera uniforme durante todo el tiempo de la prueba, y protegiendo el bastidor con una estructura de metal con cubierta de plástico.

Diseño y unidad experimental. El arreglo de los tratamientos se hizo bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones para las tres pruebas.

La unidad experimental consistió de una hilera de 50 semillas por cada repetición. En la fecha 3 de envejecimiento acelerado la unidad experimental fue de una hilera con 25 semillas por repetición.

Tamaño de muestra. El tamaño de muestra para las tres pruebas fue la misma que se utilizó en laboratorio.

### 3.6 Variables estudiadas

En el ensayo de laboratorio se realizó un sólo conteo a los 7 días y la evaluación se hizo en base a las variables siguientes:

- Germinación (G). Se consideró como el número total de plántulas normales; en este caso aquellas que tenían sus estructuras tallo y raíz bien desarrolladas, sanas y sin

malformaciones. El porcentaje se calculó en base al tamaño de muestra utilizada.

- Plántulas anormales (PA). Aquellas que presentaron por lo menos alguna deformación en sus estructuras esenciales.

- Longitud de tallo (LT). Esta se midió en las plántulas normales, desde el cuello de la raíz hasta la base de los cotiledones, en 10 plántulas tomadas al azar.

- Longitud de raíz (LR). Esta variable se tomó en las plántulas normales realizando la medición en cm, del cuello del tallo hasta la punta de la raíz más larga en 10 plántulas tomadas al azar.

- Materia seca (MS). La determinación de la materia seca se realizó con todas las plántulas normales y anormales eliminando los cotiledones y colocándolas en una estufa a 60 °C por 48 horas. Al término de este período se determinó el peso seco en gramos mediante una báscula de precisión.

Las variables que se midieron en la evaluación de invernadero fueron:

Germinación, longitud de tallo y materia seca, evaluando de la misma manera que en laboratorio, además de primer conteo como indicador de la velocidad de germinación.

- Velocidad de germinación Se determinó tomando en cuenta el número de plántulas normales registradas a los 10 días de iniciada la prueba y expresado en porcentaje.

### 3.7 Análisis estadístico

En relación a la PEA, el análisis de varianza tanto para los datos de laboratorio como invernadero se realizó tomando en cuenta las consideraciones indicadas en el desarrollo de la prueba en relación a las tres fechas realizadas, de tal forma, que en dicho análisis se incluyo la fuente de variación fecha, así como algunas interacciones.

Por lo que se refiere a las PCA y PAC, el análisis de varianza se realizo de acuerdo al diseño de tratamientos en arreglo factorial  $4 \times 7$ , en sus cuatro repeticiones.

Asimismo, otros análisis estadísticos complementarios que se llevaron a cabo para las tres pruebas y ambiente fueron la comparación de medias mediante Tukey (DMSH) al 5% de probabilidad.

Se utilizó la transformación angular o arcoseno  $\sqrt{x}$  para el análisis de varianza en los datos de germinación de la PEA, (38).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Evaluación en laboratorio

#### 4.1.1 Análisis de varianza

En el cuadro 3 se presentan los resultados de los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables medidas en las tres pruebas en conjunto desarrolladas bajo condiciones de laboratorio.

En el cuadro 3 se observa que para la PEA, existen diferencias altamente significativas en las fuentes de variación Variedad y Tratamiento, para todos los caracteres analizados, mientras que en la interacción Trat X Var sólo hubo diferencias al 0.01 de probabilidad en longitud de raíz y materia seca.

Para la PCA se observa que las diferencias encontradas para Tratamientos solo correspondieron a germinación y plántulas anormales, al 0.01 y 0.05 de probabilidad respectivamente. En el caso de Variedades hubo diferencias significativas al 5% para germinación y plántulas anormales, mientras que fue del 1% para longitud de tallo, longitud de raíz y materia seca. En la interacción Trat X Var no hubo diferencia en ninguna variable.

**Cuadro 3** Cuadrados medios y significancia estadística de las variables estudiadas en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) en condiciones de laboratorio.

CARACTERES						
F.V.	G.L.	Germinación (%)	Plántulas Anormales (%)	Long. de Tallo (cm)	Long. de Raíz (cm)	Materia Seca (g)
(PEA) 1/						
Repetición	3	0.32 **	185.79 NS	227.52 **	228.44 **	15.92 **
Variedad	6	0.12 **	195.42 **	138.38 **	96.01 **	7.88 **
Tratamiento	4	1.56 **	1119.03 **	153.70 **	115.35 **	34.09 **
Trat x Var	24	0.03 NS	3.87 NS	41.48 NS	8.26 **	0.80 **
Error	58	0.025	69.74	43.07	3.34	0.30
(PCA)						
Repetición	3	4585.84 **	1116.20 NS	117.28 **	228.48 **	44.33 **
Variedad	6	261.64 *	50.30 *	30.15 **	74.13 **	4.03 **
Tratamiento	3	960.22 **	56.55 *	2.11 NS	0.99 NS	0.58 NS
Trat x Var	18	98.30 NS	9.67 NS	5.24 NS	2.24 NS	0.43 NS
Error	81	118.11	19.72	4.21	3.17	0.29
(PAC)						
Repetición	3	541.65 **	77.09 **	100.49 **	4.18 NS	2.55 **
Variedad	6	99.70 NS	31.28 **	21.21 **	66.77 **	5.57 **
Tratamiento	3	63.55 NS	3.11 NS	16.30 *	0.73 NS	0.31 NS
Trat x Var	18	74.33 NS	10.39 NS	4.90 NS	1.21 NS	0.23 NS
Error	81	92.09	9.96	5.95	1.97	0.22

\*\* Significativo al 1% de probabilidad

\* Significativo al 5% de probabilidad

NS No significativo

1/ La variable PG en la PEA se analizó con datos transformados por arcoseno

En la PAC, los tratamientos probados fueron significativos al 5% sólo en longitud de tallo; las variedades mostraron comportamiento diferente al 0.01 de probabilidad casi para todos los caracteres evaluados con excepción de germinación. La interacción Trat X Var en este caso no fue significativa para ninguna de las variables evaluadas.

#### 4.1.2 Comparación de medias entre tratamientos.

La comparación de medias realizadas por la prueba de Tukey en las tres pruebas de laboratorio se describen en el cuadro 4.

Analizando por un lado los resultados de la PEA y en orden prioritario, la germinación, materia seca y plántulas anormales, se nota que la tendencia fue que al incrementar el nivel de estrés en el tratamiento, se afectó más la germinación promedio en las variedades utilizadas, sucediendo algo similar en cuanto a materia seca, al menos para los tratamientos de 96, 120 y 132 horas en los cuales se produjo menor materia seca comparados con el testigo. En cuanto a plántulas anormales, el efecto es más claro ya que éstas se incrementaron a medida que se aumentó el estrés, por ejemplo en los tratamientos 72 y 96 horas; de tal suerte que en los tratamientos 120 y 132 horas por ser más drásticos aumentaron considerablemente el número de semillas muertas y el resto

**Cuadro 4** Comparación de medias (Tuckey  $p \leq 0.05$ ) para tratamientos en las Pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables evaluadas bajo condiciones de laboratorio.

Variables	TRATAMIENTOS				DMGH	
	(PEA) 1					
Testigo	72	96	120	132		
Germinación	78.60 a	62.92 b	46.07 c	28.21 d	18.14 e	9.71
Pl. Anormal	8.59 ad	20.57 ab	23.78 a	12.28 be	6.78 d	6.75
L de Tallo	14.08 a	16.77 a	15.50 a	13.68 ab	9.82 b	5.32
L. de Raiz	10.13 a	11.02 a	11.33 a	7.37 b	7.23 b	2.83
Materia S.	3.24 a	3.73 a	3.00 b	1.65 c	0.51 d	0.60
(PCA) 2						
Testigo	1½ 3 hr	2½ 2 hr	3½ 2 hr			
Germinación	78.60 a	68.35 b	68.14 b	65.42 b		7.61
Pl. Anormal	8.59 ab	8.71 ab	8.32 ab	9.60 a		3.11
L de Tallo	14.08 a	11.94 a	11.84 a	11.51 a		1.43
L. de Raiz	10.13 a	8.65 a	8.25 a	8.24 a		1.24
Materia S.	3.24 a	2.70 a	2.60 a	2.53 a		0.37
(PAC) 3						
Testigo	90	105	135			
Germinación	78.60 a	82.07 a	85.00 a	85.35 a		6.72
Pl. Anormal	8.59 a	5.03 b	5.07 b	4.39 b		2.21
L de Tallo	14.08 a	16.04 a	14.63 a	15.59 a		1.71
L. de Raiz	10.13 a	11.66 a	10.81 a	10.91 a		0.98
Materia S.	3.24 a	3.37 a	3.30 a	3.55 a		0.33

1 Tiempo en horas

2 Concentración y tiempo

3 Tiempo en segundos

Media seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente.

fue plántulas anormales. Así también las variables longitud de tallo y longitud de raíz confirman el efecto gradual de los tratamientos observándose más claro en los últimos tratamientos ya que al afectarse el crecimiento de la parte aérea y raíz esto se reflejó en una menor materia seca producida.

Para la PCA, podemos observar que la germinación en todos los tratamientos, tendió a reducirse, habiendo diferencias estadísticas entre estos y el testigo: en plántulas anormales se confirmó lo ocurrido en germinación, ya que éstas se incrementaron a medida que se aumentó la concentración de cloruro de amonio y el tiempo de inmersión. La longitud de raíz y la longitud de tallo así como la materia seca mostraron la misma tendencia de reducción al aumentar la intensidad del tratamiento.

En la PAC se aprecia que todos los tratamientos en todas las variables mostraron igual comportamiento, es decir no hubo diferencias estadísticas. Aparentemente los tratamientos no fueron lo suficientemente drásticos para causar el deterioro que pudo haberse identificado mediante la reducción de germinación, o un incremento gradual de plántulas anormales, así como por menor materia seca producida.



#### 4.1.3 Comparación de medias entre variedades.

En el cuadro 5 aparecen los resultados de la comparación de medias para variedades obtenidas mediante la prueba de Tukey para las tres pruebas estudiadas con datos de laboratorio.

En la PEA, se observa que en porciento de germinación las variedades con medias más altas fueron la Pinto Texcoco, Pinto Zarco y Negro Puebla, resultando con la media más baja la variedad California Small White: para plántulas anormales la variedad Negro Puebla alcanzó el número de éstas siendo las variedades Bayo Mecentral y Flor de Mayo de Guía las que tuvieron menos plántulas anormales. En cuanto a longitud de tallo, la variedad Flor de Mayo de Guía fue la de mejor comportamiento, mientras que la variedad Bayo Mecentral fue la de menor longitud. En longitud de raíz y materia seca la variedad más sobresaliente fue la Pinto Zarco y las variedades Bayo Mecentral y California Small White las que obtuvieron las medias más bajas en las dos variables respectivamente.

En la PCA la variedad con la media más alta en germinación fue la Negro Puebla y con la media más baja la California Small White. El mayor porcentaje de plántulas anormales fue para las variedades Pinto Zarco con mayor cantidad y la Bayo Mecentral en ese orden; en longitud de

**Cuadro 5** Comparación de medias (Tukey  $p \leq 0.05$ ) para variedades en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables evaluadas bajo condiciones de laboratorio.

VARIABLES									
Germinación (%)		Pl. Anormales (%)		L. de Tallo (cm)		L. Raíz (cm)		Materia Seca (g)	
(PEA)									
PT	53.05	NP	21.57	FMG	18.07	PZ	11.56	PZ	3.03
PZ	48.52	CSW	17.47	NP	15.64	FMG	10.74	PT	3.00
NP	48.10	PT	16.31	PZ	15.61	PT	10.73	PA	2.50
FMG	42.84	PZ	14.73	PT	15.27	PA	10.30	NP	2.43
BME	42.10	PA	14.42	PA	13.19	NP	9.84	FMG	2.43
PA	40.94	BME	12.84	CSW	11.14	CSW	9.14	BME	2.42
CSW	34.73	FMG	12.10	BME	10.57	BME	4.79	CSW	1.09
DMSH	12.36	DMSH	8.27	DMSH	6.50	DMSH	1.31	DMSH	0.55
(PCA)									
NP	75.25	PZ	10.87	CSW	13.77	FMG	9.62	NP	3.06
PT	73.25	CSW	9.18	NP	13.07	PZ	9.37	PA	2.95
BME	71.12	PT	8.37	FMG	12.86	CSW	9.36	PT	2.93
PZ	70.62	FMG	8.12	PT	11.31	PT	9.27	PZ	2.86
PA	69.87	NP	8.06	PA	11.13	NP	8.88	FMG	2.73
FMG	68.50	PA	8.00	PZ	10.93	PA	8.62	BME	2.59
CSW	62.50	BME	4.93	BME	9.99	BME	3.56	CSW	1.59
DMSH	11.61	DMSH	4.74	DMSH	2.19	DMSH	1.90	DMSH	0.57
(PAC)									
FMG	87.25	PT	6.81	NP	16.60	FMG	12.35	PT	3.87
CSW	86.75	PZ	6.25	CSW	15.94	CSW	11.75	PA	3.81
PA	85.50	NP	5.68	PA	15.79	NP	11.52	FMG	3.78
PT	83.00	PA	4.75	FMG	15.36	PA	11.29	PZ	3.48
PZ	82.75	FMG	3.87	PZ	15.15	PZ	11.09	NP	3.48
NP	81.37	BME	3.81	PT	14.19	PT	11.02	BME	3.35
BME	81.25	CSW	3.06	BME	13.19	BME	6.11	CSW	2.16
DMSH	10.25	DMSH	3.37	DMSH	2.60	DMSH	1.50	DMSH	0.50

Medias seguidas por la misma barra no difieren estadísticamente.

tallo la variedad California Small White sobresalió con la media más alta aunque seguida muy de cerca de la variedad Negro Puebla que ya ha mostrado buen comportamiento para otros caracteres; la variedad Bayo Mecentral fue la que obtuvo el valor más bajo. En las variables longitud de raíz y materia seca todas las variedades se comportaron igual estadísticamente, aunque numéricamente la variedad Negro Puebla produjo la mayor materia seca; las variedades Bayo Mecentral y California Small White siguen mostrando el peor comportamiento.

En la PAC, el comportamiento de las variedades para los valores de germinación fue igual estadísticamente en todas ellas sin embargo numéricamente la variedad Bayo Mecentral aparece con valores bajos como sucedió en longitud de tallo y longitud de raíz. En cuanto a plántulas anormales, la variedad Pinto Texcoco fue la más afectada con las medias más altas y la variedad California Small White obtuvo las medias más bajas. En lo que se refiere a longitud de tallo las variedades que presentaron un mejor comportamiento fueron Negro Puebla y California Small White, mientras que la variedad que alcanzó la media más baja fue la Bayo Mecentral.

En las figuras 1 a 7 del apéndice se presenta la similitud de comportamiento entre las pruebas considerando sólo valores de germinación y materia seca producida para las diferentes variedades estudiadas.

Se observa que para cualquiera de las variedades las pruebas mostraron tendencias similares en cuanto a la capacidad de producir deterioro a medida que se incrementó la severidad del tratamiento. Esta similitud es particularmente evidente entre las pruebas de cloruro de amonio y de agua caliente. Sin embargo sus tendencias no difieren mucho de la prueba de envejecimiento acelerado sobre todo si se observa que en ésta prueba hay un tratamiento más que provoca una caída en la curva.

#### 4.2 Evaluación en invernadero

##### 4.2.1 Análisis de varianza

Los cuadrados medios de cada una de las variables estudiadas considerando las tres pruebas de vigor se muestran en el cuadro 6.

Aquí se aprecia que para la prueba de envejecimiento acelerado en las variables primer conteo, materia seca germinación y en todas las fuentes de variación de interés incluyendo la interacción; la diferencia fue altamente significativa, mientras que para longitud de tallo sólo el factor variedades mostró diferencias altamente significativas

En el caso de la prueba de cloruro de amonio las variedades presentaron comportamiento significativamente

**Cuadro 6** Cuadrados medios y significancia estadística de las variables estudiadas en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) en condiciones de invernadero.

CARACTERES					
F.V.	G.L.	Primer Cuento (%)	Germinación (%)	Long. de Tallo (cm)	Materia Seca (g)
(PEA) 1/					
Repetición	3	85.70 **	0.07 **	2.59 NS	2.53 NS
Variedad	6	596.41 **	0.17 **	3.84 **	18.12 **
Tratamiento	4	6017.87 **	3.24 **	1.42 NS	101.24 **
Trat x Var	24	95.27 **	0.04 NS	1.14 NS	2.74 **
Error	58	18.79	0.012	1.10	1.23
(PCA)					
Repetición	3	905.10 **	306.60 NS	4.91 **	7.38 **
Variedad	6	1332.79 **	1256.95 **	3.13 **	30.74 **
Tratamiento	3	153.39 **	298.13 NS	0.75 NS	1.15 NS
Trat x Var	18	19.18 NS	151.82 NS	0.33 NS	1.76 NS
Error	81	31.42	211.76	0.41	1.71
(PAC)					
Repetición	3	49.78 **	31.14 NS	4.18 **	1.69 *
Variedad	6	43.92 **	170.75 **	10.67 **	50.52 **
Tratamiento	3	15.02 NS	35.52 NS	0.21 NS	2.65 **
Trat x Var	18	14.37 *	56.27 **	0.07 NS	0.85 NS
Error	81	7.57	19.34	0.21	0.50

\*\* Significativo al 1% de probabilidad

\* Significativo al 5% de probabilidad

NS No significativo

1/ La variable PG en la PEA se analizó con datos transformados por arcoseno

diferente ( $p \leq 0.01\%$ ) para todas las variables estudiadas mientras que los tratamientos sólo mostraron diferencias al evaluar el primer conteo de plántulas. La interacción Trat x Var en esta prueba no fue diferente estadísticamente para ninguno de los caracteres.

Por otra parte en la prueba de agua caliente se aprecia que las variedades mostraron diferencias altamente significativas para las cuatro variables evaluadas, y los tratamientos no fueron diferentes desde el punto de vista estadístico para ninguna de las variables excepto materia seca donde la diferencia fue altamente significativa. Para la interacción Trat x Var hubo diferencias al 0.01 y 0.05 de probabilidad para porcentaje de germinación y primer conteo, respectivamente.

#### 4.2.2 Comparación de medias entre tratamientos

Los resultados de la comparación de medias realizadas mediante la prueba de Tukey al 5% entre tratamientos para las tres pruebas estudiadas se presentaron en el cuadro 7.

Analizando en primer lugar los resultados de la prueba de envejecimiento acelerado, se aprecia que todos los tratamientos excepto el de 72 horas bajaron la germinación con respecto al testigo. En las variables longitud de tallo y materia seca no hubo una diferencia aunque cabe mencionar que

**Cuadro 7** Comparación de medias (Tuckey  $p \leq 0.05$ ) para tratamientos en las Pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables evaluadas bajo condiciones de invernadero.

Variables	TRATAMIENTOS					DMSH
	(PEA) 1					
Testigo	72	96	120	132		
Germinación	89.09 ba	92.28 a	84.71 b	60.35 c	15.28 d	6.94
L. de Tallo	5.09 a	5.19 a	4.59 a	4.64 a	4.57 a	0.69
Materia S.	5.71 a	5.90 a	5.37 a	4.25 b	0.48 c	1.04
Primer C.	27.55 c	41.03 a	30.96 b	15.64 d	2.67 a	4.68
(PCA) 2						
Testigo	1 3 hr	2 2 hr	3 2 hr			
Germinación	89.09 a	82.50 a	80.07 ab	81.07 ab		10.20
L de Tallo	5.09 a	5.59 a	5.39 a	5.19 a		0.45
Materia S.	5.71 a	5.47 a	5.12 a	5.08 a		0.91
Primer C.	27.55 a	25.46 a	21.50 b	19.89 b		3.93
(PAC) 3						
Testigo	90	105	135			
Germinación	89.09 ab	93.28 a	95.14 a	92.64 a		3.08
L de Tallo	5.09 a	5.14 a	5.21 a	5.31 a		0.32
Materia S.	5.71 c	8.16 a	7.79 ab	7.66 b		0.50
Primer C.	27.55 b	46.00 a	46.53 a	45.28 a		1.92

1 Tiempo en horas

2 Concentración y tiempo

3 Tiempo en segundos

Media seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente.

los valores obtenidos a partir del tratamiento de 96 horas siempre fueron numéricamente menores al testigo.

En la variable primer conteo ocurrió algo similar aunque en este caso fue a partir del tratamiento de 120 horas.

En la prueba de cloruro de amonio se observó que la germinación se fue reduciendo a mayor concentración, y tiempo aunque en el tratamiento de 3% con 2 horas se registró un leve incremento de germinación con respecto al de 2% con 2 horas, pero siempre menor que el testigo. Con respecto a las tres variables restantes en que los valores tendieron a reducirse particularmente en los últimos tratamientos (2 y 3% por 2 horas) los que por supuesto fueron inferiores al testigo.

Los resultados de la prueba de agua caliente mostraron un comportamiento igual en todos los tratamientos y para cualquier variable: ésto es que los niveles de estrés utilizados en cada tratamiento no deterioraron a la semilla lo suficiente, sino que favorecieron en general todos los caracteres medidos y sobre todo aquellos tratamientos menos intensos como el de 90 y 105 segundos en agua.

#### 4.2.3 Comparación de medias entre variedades

El comportamiento de las variedades a través de las tres pruebas de interés aparecen en el cuadro 8.



**Cuadro 8** Comparación de medias (Tukey  $p \leq 0.05$ ) para variedades en las pruebas de Envejecimiento Acelerado (PEA), Cloruro de Amonio (PCA) y Agua Caliente (PAC) para algunas variables evaluadas bajo condiciones de laboratorio.

VARIABLES			
Primer Coteo	Germinación (%)	L. de Tallo (cm)	Mat. Seca (g)
<b>(PEA)</b>			
PT 29.57	PT 77.05	PA 5.19	PA 5.14
FMG 24.47	PZ 71.15	NP 5.10	PZ 4.77
PA 24.26	PA 70.52	PZ 5.07	PT 4.54
NP 21.26	FMG 66.73	FMG 4.69	NP 4.38
PZ 19.89	NP 66.42	PT 4.68	FMG 3.83
CSW 19.15	CSW 58.94	CSW 4.13	BME 3.42
BME 12.31	BME 57.57	BME 4.12	CSW 2.25
DMSH 4.29	DMSH 8.83	DMSH 1.04	DMSH 1.10
<b>(PCA)</b>			
FMG 34.50	NP 91.25	PA 5.90	NP 6.42
NP 29.93	PZ 90.75	NP 5.87	FMG 6.05
PT 28.25	FMG 86.87	PZ 5.67	PZ 5.93
PA 21.56	PA 82.37	FMG 5.45	PA 5.85
PZ 17.12	EME 81.75	PT 5.16	PT 5.71
CSW 13.68	PT 81.73	BME 4.94	EME 4.51
BME 9.81	CSW 65.00	CSW 4.81	CSW 2.43
DMSH 5.99	DMSH 15.55	DMSH 0.68	DMSH 1.40
<b>(PAC)</b>			
FMG 47.25	FMG 96.25	PA 6.53	PT 8.88
NP 46.93	NP 95.75	NP 5.79	PA 8.66
PA 46.37	PZ 95.37	PZ 5.75	PZ 8.64
PZ 46.00	PA 95.12	BME 4.97	NP 8.60
PT 45.87	PT 94.00	PT 4.95	FMG 8.23
BME 45.00	EME 90.50	FMG 4.65	BME 7.42
CSW 42.31	CSW 87.50	CSW 4.11	CSW 3.88
DMSH 2.94	DMSH 4.70	DMSH 0.49	DMSH 0.76

Medias seguidas por la misma barra no difieren estadísticamente.

En la PEA la variedad que sobresalió por su media más alta en primer conteo y germinación fue Pinto Texcoco mientras que en longitud de tallo y materia seca fue la Pinto Americano. Por otro lado las variedades que resultaron más dañadas y con las medias más bajas fueron la variedad Bayo Mecentral para primer conteo, germinación y longitud de tallo y la variedad California Small White para materia seca.

En la PCA la variedad Flor de Mayo de Guía fue superior en primer conteo; en germinación aún cuando casi no hubo diferencia estadística entre variedades; la Negro Puebla destaca en promedio alto, y lo mismo se observó para materia seca. En cuanto a longitud de tallo la Pinto Americano y Negro Puebla fueron las variedades de mejor comportamiento. Para todas las variables consistentemente las variedades California Small White y Bayo Mecentral resultaron con las medias más bajas.

En la prueba de agua caliente se observó un comportamiento similar entre variedades ya que los promedios fueron casi iguales. Sin embargo hay que resaltar que en general las mejores variedades aquí, fueron las mismas que en las dos pruebas anteriores ya que por ejemplo en primer conteo fueron la Flor de Mayo de Guía, Negro Puebla, Pinto Americano, Pinto Zarco y Pinto Texcoco; en germinación fueron Flor de Mayo de Guía, Negro Puebla y Pinto Zarco; en longitud de tallo la variedad Pinto Americano y en materia seca las

más sobresalientes fueron Pinto Texcoco, Pinto Americano Pinto Zarco, Negro Puebla y Flor de Mayo Guía. En todas las variables fue posible observar igualmente que las variedades más afectadas por la prueba fueron nuevamente las California Small White y Bayo Mecentral.

En el cuadro 9 se presenta un resumen del comportamiento de las tres pruebas para los principales factores estudiados, en las dos condiciones y tomando en cuenta tres caracteres de interés. Se aprecia congruencia para las variedades y condiciones en lo que se refiere a la prueba de envejecimiento acelerado y prueba de cloruro de amonio; en la prueba de agua caliente, sólo para germinación hay diferencias de comportamiento en las dos condiciones. En cuanto a los tratamientos, existieron algunas diferencias entre condiciones por ejemplo en longitud de tallo en la PEA; en la PCA las diferencias entre condiciones de laboratorio e invernadero se dá solamente en germinación, mientras que en la PAC fue en longitud de tallo y materia seca. La interacción mostró un comportamiento no significativo en las tres pruebas en cuanto a condiciones en longitud de tallo y materia seca, mientras que en germinación la interacción fue diferente con respecto a la PCA para los tres caracteres medidos siendo similar en cuanto a la no significancia.

El comportamiento general observado en invernadero (figuras 8 a 14) fue un tanto más congruente a lo esperado,

**Cuadro 9** Comparación conjunta del comportamiento de las pruebas para caracteres comunes, bajo condiciones de Laboratorio (L) e Invernadero (I).

		CARACTERES					
F. V.	PRUEBA	Germinación (%)		Long. de Tallo (cm)		Materia Seca (g)	
		L	I	L	I	L	I
Variedad	PEA	++	++	++	++	++	++
	PCA	+	++	++	++	++	++
	PAC	NS	++	++	++	++	++
Tratamiento	PEA	++	++	++	NS	++	++
	PCA	+	NS	NS	NS	NS	NS
	PAC	NS	NS	++	NS	NS	++
Trat x Var	PEA	NS	++	NS	NS	++	++
	PCA	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	PAC	NS	NS	NS	NS	NS	NS

+ : Significativo al 5%  
 ++ : Significativo al 1%  
 NS : No Significativo

apreciándose que sólo para Bayo Mecentral y Pinto Zarco la tendencia de la prueba de cloruro de amonio y agua caliente fue a agregar el valor de germinación y materia seca, con ligeras variaciones en las curvas ya que por ejemplo la prueba de cloruro de amonio en la variedad Flor de Mayo de Guía mostró tendencias ascendentes para las dos variables que se midieron.

En el cuadro 10 se presenta un resumen del comportamiento varietal en las tres pruebas considerando conjuntamente los datos de laboratorio e invernadero. Analizando por un lado el comportamiento alto, de las variedades, en base a los datos promedio se aprecia que a nivel de la prueba de envejecimiento acelerado, en ambas condiciones, las variedades que expresaron mejor comportamiento fueron la PT, FMG, PA y PZ; en la prueba de cloruro de amonio NP, PA, y FMG; y en la prueba de agua caliente la FMG, NP, PA y PT. Asimismo se aprecia consistencia entre variedades en ambas condiciones para variables particulares como por ejemplo PT, NP y FMG en porcentaje de germinación; para NP y PT en materia seca y para FMG para longitud de raíz y primer conteo. Otro aspecto que resalta es la consistencia de los datos de invernadero de la variedad PA, en longitud de tallo para las tres pruebas.

En lo que respecta al comportamiento de las variedades con mayor efecto de deterioro resaltan principalmente las variedades BME y CSW.

**Cuadro 10.** Resumen del comportamiento varietal en las tres pruebas para algunas variables de interes (laboratorio e invernadero)

VARIABLES										
Comportamiento	Prueba	Germinación		Longitud de Tallo		Materia Seca		Plántulas 1 Anormales	Long. de 1 Raiz	Primer 1 Conteo
ALTO		L	I	L	I	L	I	L	L	I
	PEA	PT	PT	FMG	PA	PZ	PA	NP	PZ	PT
	PCA	NP	NP	CSW	PA	NP	NP	PZ	FMG	FMG
	PAC	FMG	FMG	NP	PA	PT	PT	PT	FMG	FMG
BAJO										
	PEA	CSW	BME	BME	BME	CSW	CSW	FMG	BME	BME
	PCA	CSW	CSW	BME	CSW	CSW	CSW	BME	BME	BME
	PAC	BME	CSW	BME	CSW	CSW	CSW	CSW	BME	CSW

1 Variable evaluada sólo en esa condición

PEA: Prueba de Envejecimiento Acelerado  
 PAC: Prueba de Agua Caliente

PCA: Prueba de Cloruro de Amonio  
 FMG: Flor de Mayo Guía  
 PA: Pinto Americano  
 NP: Negro Puebla  
 BME: Bayo Mecentral  
 CSW: California Small White

L : Laboratorio  
 I : Invernadero

## V. DISCUSION

### 5.1 Factores de estudio principales

De acuerdo con los análisis de varianza (cuadro 4) se pudo observar que de los factores estudiados, las variedades fueron las que mostraron mayores diferencias significativas ( $p=0.01$ ) al evaluar cualquiera de los caracteres, en general con pequeñas diferencias para cualquiera de las tres pruebas de vigor estudiadas. Este comportamiento estuvo determinado, por un lado, por el genotipo y por otro quizás debido a las diferencias morfológicas y anatómicas de las semillas de las diferentes variedades, como señala Copeland (12). Asimismo el hecho de haber encontrado respuestas varietales diferentes de acuerdo con la prueba de vigor utilizada, es un indicador de las exigencias específicas de cada especie y de la importancia de una definición previa de la prueba de vigor antes de implementarla en cultivos con requerimientos específicos. Sin embargo cabe mencionar que en la prueba de agua caliente las variedades se comportaron igual en cuanto al porcentaje de germinación, pero esto se debió muy posiblemente a que los tratamientos de estrés no produjeron suficiente daño en las semillas.

En cuanto al efecto de los tratamientos se pudo apreciar que las diferencias significativas y altamente significativas

se dieron principalmente en la prueba de envejecimiento acelerado en todas las variedades y en las dos condiciones, excepto en longitud de tallo para la condición de invernadero; en la prueba de cloruro de amonio la significancia se observó únicamente en la variable germinación y plántulas anormales en laboratorio, y germinación en invernadero y en la prueba de agua caliente en las variables longitud de tallo en laboratorio y materia seca en invernadero. Esta diferencia de tratamientos en las variables nos podría estar indicando el efecto que hubo en cuanto a deterioro expresado en reducción o aumento en cualquiera de ellas. Este último caso ocurrió en los tratamientos de la prueba de agua caliente las que mejoraron la germinación en lugar de reducirla. Sin embargo el comportamiento un tanto indefinido observado en la prueba de cloruro y de agua caliente comparado con el de la prueba de envejecimiento acelerado, no hace sino confirmar lo estudiado por otros autores (12,16,22,48), en el sentido de que ésta última prueba es una de las más probadas y como contraparte que son necesarios más ensayos en las dos pruebas que se compararon con ella. En lo que se refiere al comportamiento proporcional de deterioro según el nivel de estrés, este se podría considerar como el punto de partida para definir perfectamente cual prueba debería ser aplicada en futuros ensayos de vigor para determinada especie de acuerdo con una pérdida promedio de deterioro, aún en la prueba de envejecimiento acelerado, ya que como hemos indicado en



relación a ésta, si se trata de una especie un tanto diferente, es necesario realizar ensayos previos.

En el caso de la interacción Trat x Var se encontró que en la prueba de envejecimiento acelerado hubo una alta significancia en algunas variables materia seca en laboratorio y germinación y materia seca en invernadero, así como en la prueba de agua caliente, y solamente para germinación bajo condiciones de invernadero; lo que muestra que algunas variedades se vieron afectadas por el tratamiento más que otras en las variables antes mencionadas. La no significancia encontrada en las demás variables de las tres pruebas en ambas condiciones es indicativo de que los efectos de los tratamientos ensayados fueron independientes de las variedades que se utilizaron.

## 5.2 Deterioro producido en función a los tratamientos

En los resultados obtenidos de las pruebas de laboratorio, para la prueba de envejecimiento acelerado, fue posible observar que el grado de deterioro en las semillas de frijol, aumentó a medida que se fue incrementando el tiempo de exposición a altas temperaturas y alta humedad relativa, lo cual se manifestó con la reducción de la germinación, el aumento de plántulas anormales (o semillas muertas) y en la reducción del peso seco; como lo señalan Delouche y Baskin (16) y otros investigadores (12) indicando que a medida que

las semillas permanecen más tiempo bajo condiciones de alta humedad relativa y altas temperaturas, éstas sufrirán un mayor deterioro y por consiguiente el período de permanencia bajo almacenamiento con el propósito de conservar su calidad disminuirá considerablemente.

En contraparte el desempeño que se tuvo para las semillas en la emergencia en invernadero para esta prueba (PEA) fue diferente, presentando una respuesta superior al testigo los tratamientos 72 y 96 horas en la variable germinación que fue ligeramente menor; es posible que este efecto sea el resultado del bajo vigor inicial de la semilla que se vió favorecida tanto por la prueba como por las condiciones de germinación en invernadero. Esto se puede constatar si observamos los promedios bajos de germinación de la semilla que no recibió ningún tratamiento de deterioro (testigo).

Por otra parte los resultados mostraron que los tratamientos 120 y 132 horas de envejecimiento en ambas condiciones presentaron un mayor deterioro, observándose esto en las variables de interés evaluadas y donde el efecto provocado fue la reducción de la germinación y materia seca y el aumento en el número de plántulas anormales en el laboratorio.

En la prueba de cloruro de amonio, se pudo apreciar que aún cuando estadísticamente no se observan diferencias entre los tratamientos, es notorio que conforme se aumentó la concentración de la solución, la germinación y demás variables disminuyeron y aumentó el número de plántulas anormales (y semillas muertas en el tratamiento 2% por 2 horas). Este comportamiento coincide con lo descrito por Duarte (17), en el sentido de que al aumentar la concentración de ésta sustancia se provoca incremento en el deterioro. El tiempo de inmersión se considera que también es importante ya que determina la posibilidad de mayor o menor daño a la semilla por permanecer más o menos tiempo en contacto con la solución; en éste caso no fue posible apreciar con gran exactitud el efecto producido por el tiempo de inmersión debido a que el mayor tiempo utilizado fue de tres horas con una concentración de 1%, la más baja, y fue la que obtuvo mayor germinación en los tres tratamientos evaluados; tal respuesta podría sugerir la exploración de otros tratamientos más severos dados por mayor tiempo de inmersión y concentración en futuros trabajos sobre el tópico.

Con respecto a la evaluación en invernadero, se pudo apreciar que aunque no hubo diferencia estadística entre tratamientos en todas las variables, numéricamente sí fue posible percibir que al igual que en laboratorio existió una notable reducción de la germinación en todos los tratamientos

en comparación con el testigo, así como en las demás variables, con excepción del tratamiento 1% y 3 horas donde la materia seca y longitud de tallo presentaron un valor ligeramente mayor que el testigo. Por otro lado, dentro de los tres tratamientos, el tratamiento 2% y 2 horas resulto con la germinación más baja, como lo observo Delouche et al (citado por Duarte 17), quién concluyó que este tratamiento era el más efectivo para evaluar vigor en semillas de trébol; aunque si comparamos este mismo tratamiento con el de 3% y 2 horas en cuanto a materia seca y longitud de tallo, éste último produjo mayor deterioro, tal y como se esperaba.

En lo que se refiere a la prueba de Agua Caliente se advierte que estadísticamente no existió diferencia entre tratamientos para ninguna variable evaluada en los resultados de laboratorio (cuadro 4). Ninguno de los tratamientos de esta prueba provocó deterioro en la semilla de frijol, sino se observó todo lo contrario, ya que ayudaron a la semilla a obtener un mejor desarrollo y germinación a medida que el tratamiento se aumentó. En cuanto a la germinación se observó de manera general que ésta se mejoró conforme se incrementó el tiempo de inmersión en agua caliente, siendo el tratamiento de 135 segundos el que obtuvo la mayor germinación, materia seca, longitud de raíz y menor número de plántulas anormales, siempre comparado con el testigo. En invernadero al igual que en laboratorio no hubo diferencia estadística, ni deterioro entre tratamientos en ninguna

variable con excepción de materia seca donde si se presentaron ligeras diferencias. Lo anterior coincide en parte con lo señalado por Powell y Mathews en cuanto a que es necesario más experiencias en pruebas como ésta. Al respecto y como posible explicación a lo observado en la prueba de agua caliente, cabe indicar que la literatura reporta algunas teorías que se basan en una cierta recuperación en la condición interna de la semilla a través de un preacondicionamiento que mejora la germinación, lo que es manejado por algunos investigadores como invigoración (7, 22, 25). Estas teorías indican que mediante el preacondicionamiento, es decir la colocación de semillas con bajos porcentajes de germinación en un ambiente favorable de temperatura y humedad, ayudan a ésta a reorganizar su estructura interna, que da por resultado ligeros incrementos en germinación. Hay que recordar en este sentido que la semilla utilizada no era muy buena en cuanto a su calidad inicial lo cual aunado a los tratamientos de inmersión en agua caliente, pudo haber ocasionado la respuesta ya observada. Esto, podría indicar quizás la necesidad de la exploración de otros tratamientos más severos en cuanto a daños por agua caliente a fin de corroborar esta teoría.

### 5.3 Respuestas de variedades a las pruebas de vigor

Con respecto al comportamiento general de las variedades en las tres pruebas, (cuadros 5, 8 y 10) se pudo observar

mediante las barras, distintos grupos de significancia en las diferentes variables, que se midieron; por ejemplo en germinación para la prueba de agua caliente todos los valores fueron estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Por otro lado fue fácil distinguir un grupo de variedades que resistieron más el deterioro y otro que fue más afectado tanto en los datos de laboratorio como invernadero. Según se observa el agrupamiento de promedios altos o bajos varía según la variable en cuestión. Sin embargo aquellas variedades que fueron más resistentes al deterioro, así lo fueron tanto a través de variables como de pruebas, como es el caso de las variedades Negro Puebla, Pinto Texcoco, Pinto Zarco y Flor de Mayo de Guía. Las variedades que en términos generales presentaron en las tres pruebas un mal comportamiento fueron la California Small White y la Bayo Mecentral en ambas condiciones.

Los resultados anteriores resaltan que las diferencias varietales dentro de cada prueba se debieron posiblemente a que algunas resistieron más que otras el deterioro a que fueron sometidas. Por lo que el comportamiento diferencial pudo haberse asociado con las características propias de la variedad (54) como dureza de testa y color entre otras, que identifican a cada una de las variedades incluidas en el estudio. Por otra parte, las variedades Bayo Mecentral y California Small White fueron las más susceptibles al deterioro en las tres pruebas, lo que puede indicar que en

este caso los niveles de los tratamientos en cualquiera de las tres pruebas deberían ser más bajos para evaluar vigor en estas semillas; contra lo que puede ser el caso de las variedades que resistieron más. Todos estos resultados hacen suponer entonces que existe la necesidad de que antes de usar una determinada prueba de vigor, aún en especies en las que ya existe algo de información, es necesario hacer ensayos previos que permitan afinar bien, detalles relacionados con genotipos, y con niveles de deterioro. Más aún si el objetivo es validar o hacer más permanente algunas pruebas de vigor en algún cultivo, es indispensable la definición de un tratamiento adecuado que deteriore la semilla hasta el nivel deseado según la especie, y a partir de aquí usarla en forma rutinaria para evaluar el vigor de semillas; con el propósito por ejemplo de predecir la calidad después de determinado período de almacenamiento.

#### 5.4 Comparación de resultados obtenidos en laboratorio e invernadero.

El comportamiento conjunto de las pruebas evaluadas tanto en laboratorio como en invernadero (cuadro 9), nos indican la similitud de comportamiento entre pruebas para tres variables de acuerdo con la fuente de variación. Por ejemplo las variedades como se mencionó, fueron muy consistentes tanto en laboratorio como invernadero al medir porcentaje de germinación, longitud de tallo y materia seca en

las tres pruebas de vigor. Asimismo dentro del mismo factor variedad de las tres pruebas de vigor fueron muy parejas entre sí y en ambas condiciones en cuanto a su significancia. La similitud entre pruebas en cuanto a los tratamientos no fue tan consistente ya que en lo referente a germinación sólo la PEA y PCA fueron significativas, y en longitud de tallo PEA y PAC, para ambas variables considerando los datos de laboratorio. En la información proveniente de invernadero y para materia seca la PEA y PAC fueron las que se parecieron en comportamiento.

Esta asociación entre pruebas, variedades y condiciones es un indicador más de la cantidad de factores que intervienen en la puesta en práctica de cualquier prueba de vigor que no está suficientemente evaluada.

En forma clara fue posible apreciar asimismo, que el desempeño obtenido por las semillas en las tres pruebas fue mejor en condiciones de invernadero que en condición de laboratorio. Este comportamiento es posible que se haya visto favorecido por causas como mayor tiempo de duración de la prueba de germinación y fluctuación en la temperatura y calidad de la luz en el invernadero, que ocasionó un mayor desarrollo de plántulas y acumulación de materia seca; mientras que en laboratorio hubo mayor humedad relativa y del sustrato; condiciones ambientales que son muy propicias para el desarrollo de hongos y bacterias, situación que ha sido



observada en la prueba de envejecimiento acelerado por diversos autores (22,43,56), y que se considera como uno de los grandes inconvenientes de esta prueba.

### 5.5 Discusión general de las pruebas evaluadas

En términos generales se distingue entonces que tanto la prueba de envejecimiento acelerado como la prueba de cloruro de amonio, se pueden emplear como medios para producir estrés y reducir vigor en semillas de frijol, mediante la comparación de las mismas tal como lo hizo Musgrave et al (47) en este caso con metanol por lo cual de acuerdo con la susceptibilidad de la semilla en cuestión es posible utilizar alguno de los tratamientos estudiados de acuerdo con el interés en cuanto al por ciento de reducción de vigor. En cuanto a la prueba de agua caliente es necesario que para lograr un deterioro en semillas de esta especie y con ello su aplicación como prueba de vigor se ensayen mayores niveles de estrés que los utilizados en este trabajo, aumentando ya sea el tiempo de inmersión o la temperatura; ya que por los datos numéricos fue posible inferir que después de un cierto nivel de estrés, la semilla comienza a sufrir deterioro.

Por lo que se refiere a la prueba de envejecimiento acelerado no se niega la utilidad de ella y el uso más extenso que ha tenido, sin embargo de acuerdo con los problemas que se citan por varios investigadores en cuanto a

su implementación como incidencia de hongos, tiempo, etc., que dificultan la interpretación de los análisis de calidad de semilla, hacen pensar que es necesario mejorar las condiciones de la prueba o bien, contar con otras opciones como las pruebas de vigor evaluadas en este trabajo y otras, previa estandarización.

No obstante como se observó esto no es fácil y requiere de trabajos adicionales y consistentes y en cada experimento futuro sobre el tópico es recomendable controlar de manera más precisa factores que se relacionan directamente con el vigor de las semillas, como edad de la misma, cantidad de agua en el sustrato, incidencia de hongos, semilla uniforme, profundidad de siembra si es en arena, etc., y que de no hacerlo, podrían enmascarar los resultados de las evaluaciones de vigor.

## VI. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y bajo las condiciones en que se realizó el presente trabajo, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Además de la de envejecimiento acelerado, la prueba que proporcionó un mayor deterioro y por lo tanto fue útil para medir el vigor de las semillas fue la de cloruro de amonio.

2. Es necesario explorar un mayor número de niveles de estrés en la prueba de agua caliente con el fin de producir mayor deterioro en estas variedades de frijol, y así definir tendencias de comportamiento y similitud entre las pruebas que se comparen.

3. La similitud de comportamiento entre pruebas indicó que es factible utilizar la prueba de cloruro de amonio para evaluar vigor de semillas en las variedades Pinto Americano, Negro Puebla, Pinto Zarco y Pinto Texcoco, las que además resistieron más el deterioro.

4. Hubo un comportamiento diferencial significativo entre variedades manifestado mediante dos grupos bien definidos por su menor o mayor susceptibilidad al deterioro,

siendo de este último las variedades Bayo Mecentral y California Small White.

5. Hubo asociación entre pruebas y variedades, lo que se podría indicar que algunas pruebas de vigor son mas apropiadas que otras de acuerdo con el genotipo evaluado.

6. Se considera que aún es necesario obtener más información referente a la bondad de estas pruebas a fin de lograr su estandarización para su uso más confiable y generalizado en la evaluación de vigor de semillas.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Abdul-Baki; A.A. and J.D. Anderson 1972. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: T.T. Kozlowski. Seed Biology, II. 283-315, New York.
2. Abdullahi, A. and R.L. Vanderlip 1972. Relationships of vigor tests and seed source and size to sorghum seedling establishment. Agronomy Journal, 64, 143-144.
3. Bass, L.N. 1973. Controlled atmosphere and seed storage. Seed Sci. & Technol. 1: 463-492.
4. Battacharyya, S., A.K. Hazra and Sen Mandi 1985. Accelerated ageing of seeds in hot water germination characteristics of aged wheat seeds. Seed Sci. & Technol. 13: 683-690.
5. Bewley, J.D. and M. Black 1978. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. I Development, germination and growth. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. p. 1-6.
6. Boswell, R.V. 1982 Semillas. Manual para el análisis de su calidad. The United States Department of Agriculture Washintong, D.C. U.S.A.
7. Bourland, F.M., G. Kaiser y E.R. Cabrera 1988. Rapid deterioration of cotton Gossypium hirsutum L. seed using hot water. Seed Sci. and Technology 16: 673-683.
8. Brauer H., O. 1983. Fitogenética aplicada. Limusa, México. p. 465-475.
9. Bustamante L. 1982. Semillas: Control y Evaluación de su calidad. Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. AMSAC. UAAN, MÉXICO. P. 99-106.
10. Ching T.M. 1973. Biochemical aspects of seed vigor. Seed Sci. & Technol. 1: 73-88.
11. CIAT, 1983. Metodología para obtener semillas de calidad, arroz, frijol, maíz, sorgo. Cali, Colombia.
12. Copeland L.O. 1976. Principles of seed science and technology. Burges Publishing Co. Minnesota.
13. Croker, W. and L. Barton. 1957. Physiology of seeds. Chronica Botánica Company. U.S.A.

14. Cubero, J., I y Moreno M., T. 1973. Leguminosas de grano. Mundi-prensa. Madrid.
15. Dávila C., S. 1982. Importancia, procedimientos y aspectos prácticos en el secado de semillas. Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. AMSAC. UAAN, México. pp. 37-46.
16. Delouche J.C. and C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Sci. & Technol. 1: 427-452.
17. Duarte, F.A. 1983. Estudo das condicoes de teste de imersao em cloreto de amonio (NH<sub>4</sub> Cl), na avaliacao do vigor em sementes de soja (Glycine max (L.) Merrill). Tesis de Mastría Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-Rio Grande do Sul-Brasil.
18. Duffus, C. and Colin Slaughter 1985. Las semillas y sus usos. A.G.T. Editor S.A, México.
19. Ellis, R.H. and E.H. Roberts 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. & Technol. 9, 373-409.
20. Espinosa C., A. 1985. adaptabilidad, productividad y calidad de líneas e híbridos de maíz (Zea mays L.). Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
21. FAO. 1979. Mejoramiento de la producción de semillas. Roma, Italia. pp. 16-17.
22. Furbeck, S. C., F.M. Bourland y E.R. Cabrera 1989. Comparison of hot water and accelerated ageing techniques for deterioration of cotton seed. Seed Sci. & Technol. 17, 255-261.
23. Garay A. , E. 1981. Calidad de la semilla y su importancia en la productividad. Conferencia en el primer curso avanzado en producción y control de calidad de semillas. Cali, Colombia. Mecanografiado.
24. García G., J.C. 1981. Control de calidad de postcosecha. Conferencia en el primer curso avanzado en producción y control de calidad de semillas. Cali, Colombia. Mecanografiado.
25. Hadas, A. 1977. A suggested method for testing seed vigour under water stress in simulated arid conditions. Seed Sci. & Technol. 5: 519-525.

26. Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. In: T.T. Kozlowski. Seed Biology III, 145-245. New York.
27. Harrington, J.F. 1973 a. Biochemical basis of seed longevity. Seed Sci. and Technol. I. 453-461.
28. Harrington, J.F. 1973 b. Problems of Seed Storage. In: W. Heydecker. Seed Ecology. 251-263, London.
29. Hartman, H.T. and D.E. Kester 1980. Propagación de plantas. Principios y Prácticas. Editorial Continental, México. p. 124-183.
30. Hernández L., A. 1985. Efecto de la fertilización y densidad de población en el rendimiento y calidad de semilla de girasol. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
31. Heydecker, E. 1972. Vigour. In: Roberts, E.H. (ed) Viability of seed. Great Britain. Chapman and Hall p. 209-252.
32. Heydecker, M.J., Higginz and I.J. Turner. 1975. Invigoration of seeds. Seed Sci. & Technol. 3, 881-888.
33. ISTA. 1985. International rules for seed testing. Seed Sci. & Technol. 13 (2): 322-463.
34. James, E.N.L. Bass and D.C. Clark 1967. Varietal differences in longevity of vegetable seeds and their response to various storage conditions. American Society for Horticultural Science 91, 521-400.
35. Justice, O.L. 1973. Introductory remarks. Seed Sci. & Technol. I, 399-400.
36. Kueneman, E.S. 1983. Genetic control of seed longevity in soybeans. Crop. Science 23, 5-8.
37. Kulik, M.M and W. R. Yaklich 1982. Evaluation of vigor test in soybean seeds Relationships of accelerated aging, cold, sand beach, and speed of germination tests to field performance. Crop Science, Vol. 22.
38. Little, T.M. y F.J. Hills 1983. Metodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas, México.
39. Martínez L., A. 1987. Comportamiento de la germinación y el vigor de plántulas en líneas e híbridos de maíz (Zea mays L.) como respuesta al envejecimiento acelerado de semillas. Tesis de Licenciatura. F.E.S.-Cuautitlán, UNAM.

40. McDonald, M.B.Jr and B.r. Phaneedranath 1978. A modified accelerated aging seed vigor test for soybeans J. Seed Technol. 3(1), 27-37.
41. Minor, H.C. and Paschal, B.H. 1982. Variation in storability of soybean under simulated tropical condition. Seed Sci. & Technol.10.131-139
42. Molina M., J.C. 1986. Avaliacao de testes de vigor em sementes de milho e suas relacoes com a emergencia a campo. Tesis de Maestria. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-Rio Grande do Soul, Brasil.
43. Moore, R.P. 1972. Effects of mechanical injuries on storability in: Roberts, E.H. (Ed.) Viability in seeds. Great Britain. Chapman and Hall. pp. 94-114.
44. Moreno M., E. 1982. Hongos de granos almacenados su importancia y combate. Memorias de actualización sobre tecnología de semillas AMSAC. UAAN, México. pp 47-67.
45. Moreno M., E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología, UNAM. México pp.223-249.
46. Moreno M., E. 1984. Resistencia de la semilla de maiz a perder su viabilidad bajo condiciones adversas de almacenamiento. Memoria V Simposio Ncional de Parasitología Agrícola. Instituto de Biología. UNAM. México.
47. Musgrave., M.E., D.A. Priestley, and A.C. Leopold 1980. Methanol stress as a test of seed vigor. Crop Science, Vol. 20, Sept-Oct. pp. 628-630.
48. Perl, M. 1979. Invigoration of cotton seedling by treatment of seeds for pregermination activities. J. Exp. Botany. 30 (114) pp. 183-192.
49. Perry, D.A. 1980. The concept of seed vigor and its relevance to seed production techniques. In: O.D. Hebblethwaite (ed.). Seed production. Great Britain. Butterworth. pp. 585-591.
50. Perry, D.A. 1981. Manual de métodos de ensayo de vigor. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Madrid, España.
51. Powell, A.A. and Mathews, S. 1981. Evaluation of controlled deterioration, a new vigour test for small seed vegetables. Seed Sci. & technol. 9, 633-640.



52. Priestley, D.A. 1986. Seed Ageing. Pub. Comatock Agr., pp. 186-195.
53. Ramirez G., M. 1982. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Ed. CECSA. México.
54. Rennie, W.J. and Tomlin, M.M. 1981. A comparison of laboratory vigour test procederes for winter wheat seed samples. Seed Sci. & Technol. 9, 649-653.
55. Rincon S.,F. 1989. Deterioro de semillas de maiz y su relación con las condiciones de almacenamiento. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados. Montecillo , México.
56. Roberts, B.H. 1981. Physiology of ageing and its aplication to drying and storage. Seed Sci. & Technol. pp.9, 359-372.
57. Rodríguez G., E. 1987. Evaluación de líneas de maiz (Zea Mays L.) por su comportamiento en la prueba de envejecimiento acelerado. Tesis de Licenciatura. FES.-Cuautitlán, UNAM. México.
58. Ruiz O., M., Nieto R. , D. y Larios R., I. 1979. Tratado elemental de Botánica. ECLASA, México. pp 243-245.
59. Santiago R., L.H. 1988. Comportamiento de la germinación y el vigor en semillas de maiz (Zea mays L.) de distinto origen genético sometido a diferentes temperaturas y sustratos. Tesis de Licenciatura. FES-Cuautitlán. UNAM, México.
60. Savino, G. Haigh, P.M. and DeLeo 1979. Effects of presoaking upon seed vigour and viability during storage. Seed Sci. & Technol. pp. 7, 57-84.
61. Semillas. Manual para el análisis de su calidad. The USDA Washintong, D.C. U.S.A.
62. Valadez M., E. 1985. Aspectos generales sobre patología de semillas. Memoria de la reunión nacional sobre producción de semillas. Chapingo, México. pp. 115-126.
63. Villaseñor M., M. 1984. Factores genéticos que determinan el vigor en plántulas de maiz. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

## VIII. APENDICE

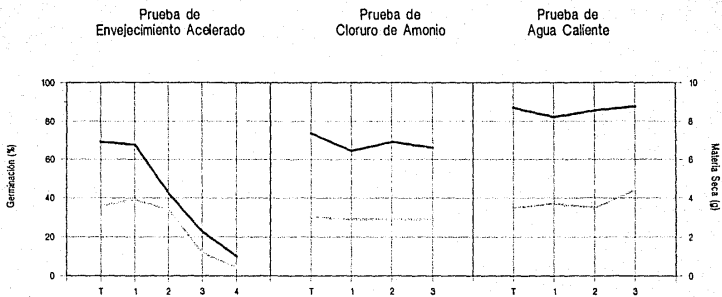


FIGURA 1. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Pinto Americano para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

— (—) (%) de Germinación  
 - - - ( - - - ) Materia Seca (g)

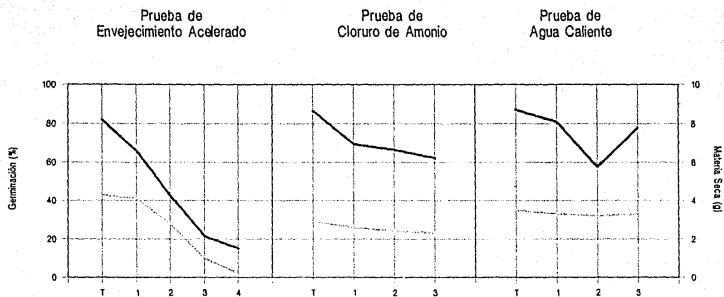


FIGURA 2. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Bayo Mecentral para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

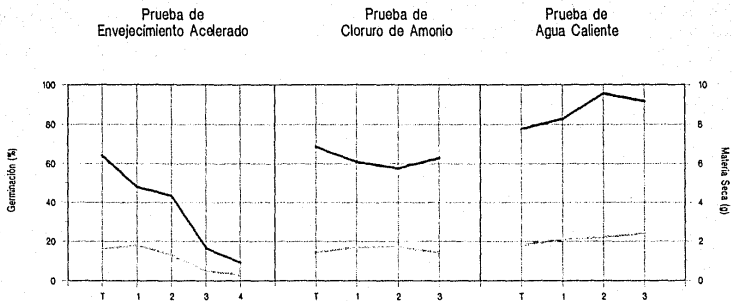


FIGURA 3. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol California Small White para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

Prueba de  
Envejecimiento Acelerado

Prueba de  
Cloruro de Amonio

Prueba de  
Agua Caliente

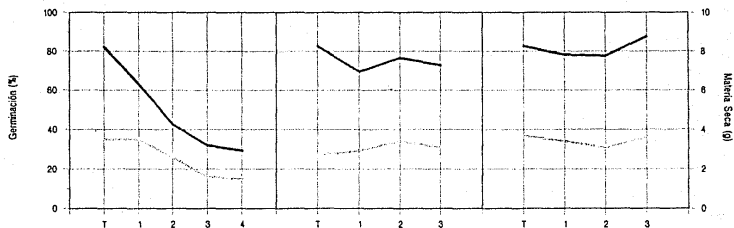


FIGURA 4. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Negro Puebla para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

— Germinación (%)  
- - - Materia Seca (g)

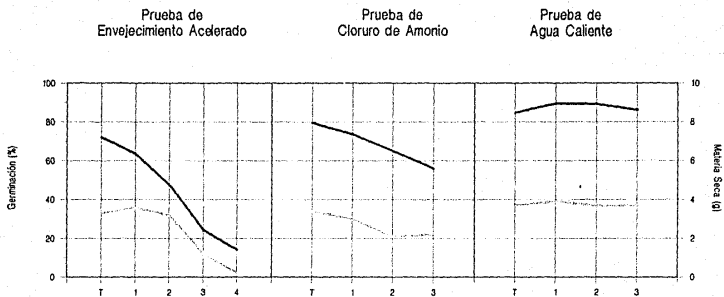


FIGURA 5. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Flor de Mayo de Gula para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

(%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

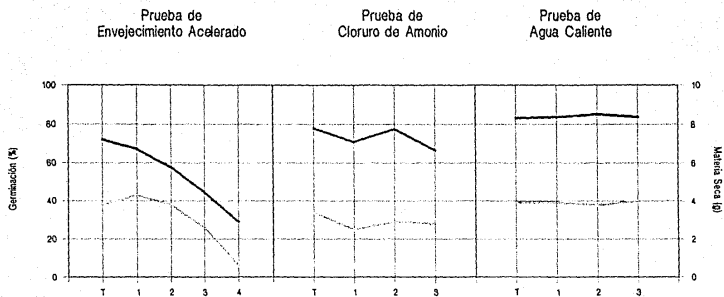


FIGURA 6. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Texcoco para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de laboratorio).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)



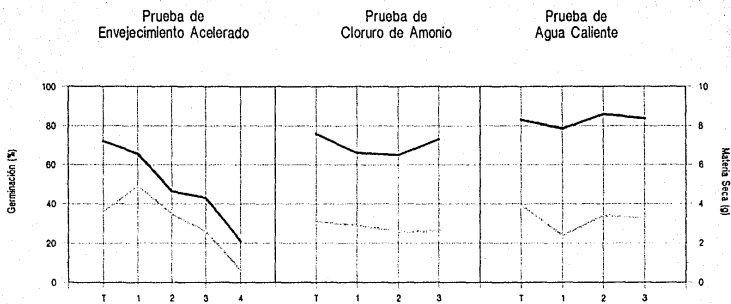


FIGURA 7. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Zarco para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de Laboratorio).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

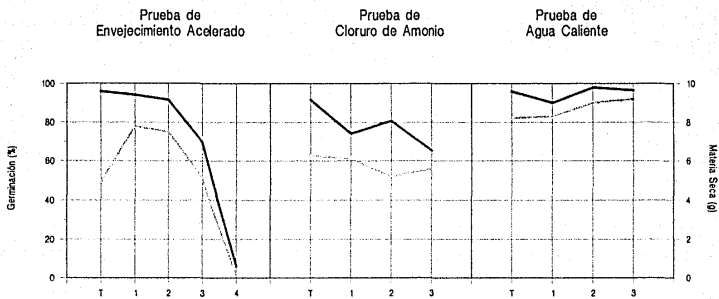


FIGURA 8. Comparacion de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Americano para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

— (%) de Germinación  
 - - - - - Materia Seca (g)

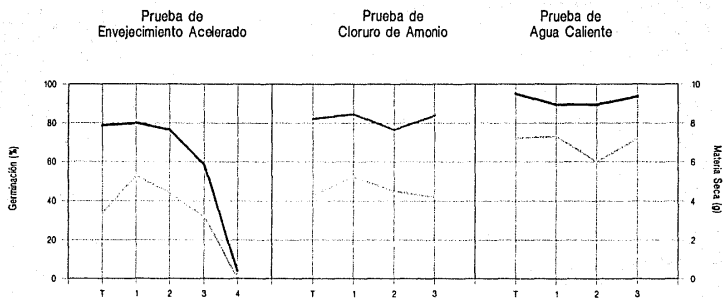


FIGURA 9. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Bayo Mecentral Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

— Germinación (%)  
 - - - Materia Seca (g)

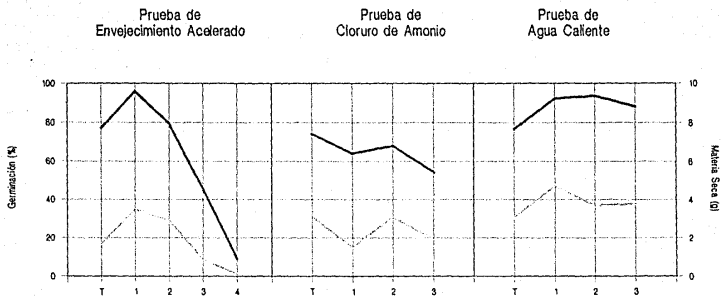


FIGURA 10. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol California Small White para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

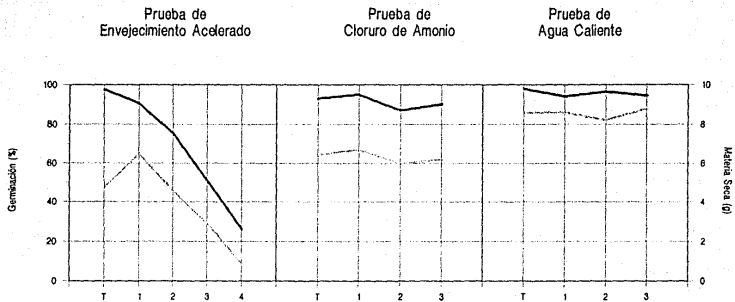


FIGURA 11. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Negro Puebla para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

— (%) de Germinación  
 - - - (g) Materia Seca

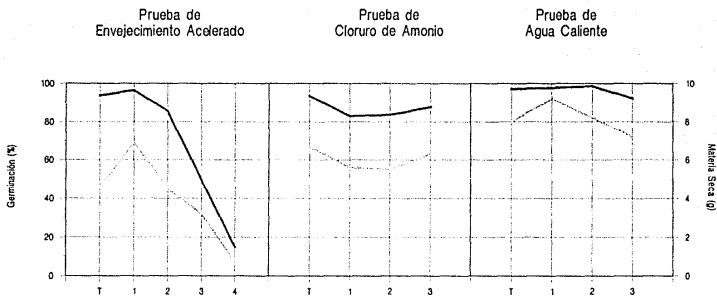


FIGURA 12. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Fior de Mayo de Güla para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

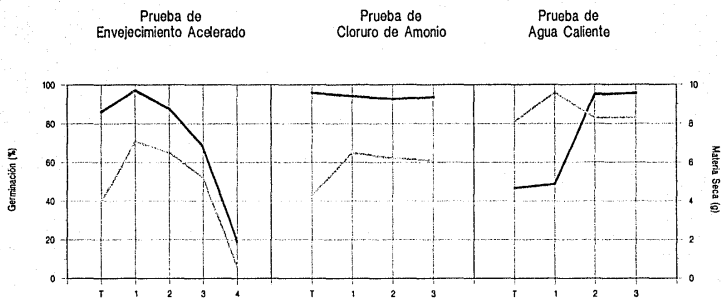


FIGURA 14. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en frijol Pinto Zarco para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de Invernadero).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)

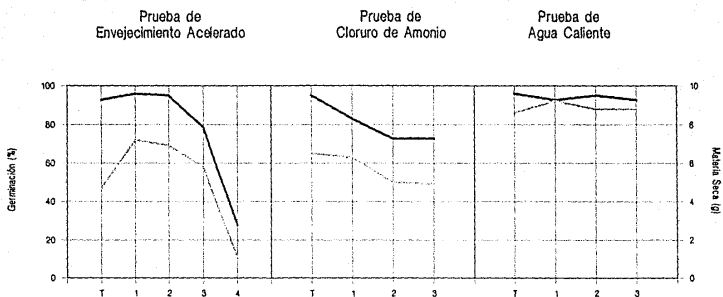


FIGURA 13. Comparación de respuestas de las tres pruebas de vigor en Frijol Pinto Texcoco para Porcentaje de Germinación y Materia Seca (Datos de invernadero).

 (%) de Germinación  
 Materia Seca (g)