

ANOTACIONES

MANUAL DE ENSAYOS DE SEMILLAS FORESTALES

Secretaría de Medio Ambiente
Gobierno del Estado de Coahuila

GLOSARIO

Aquenio: Fruto seco, indehiscente, monospermo en el cual la cubierta de la semilla no se adhiere al pericarpio.

Cariópside: Fruto seco, indehiscente, monospermo, con el pericarpio adherido a la semilla, típico de las gramíneas.

Coleoptilo: Envoltura que rodea y protege el brote en el embrión y plántulas de gramíneas.

Cotiledón: Hoja de la semilla, primera o primeras hojas de un embrión y plántula no es una hoja foliar.

Epicotilo: Parte del tallo de la plántula situada inmediatamente encima de los cotiledones y por debajo de la hoja primaria.

Esquizocarpo: Fruto seco formado por dos o más carpelos unidos que se separan al madurar quedando las semillas encerradas dentro de cada carpelo o parte del carpelo (*malva sp.*)

Hipocótilo: La parte del tallo de la plántula situado entre los cotiledones y la raíz primaria.

Mericarpo: Cada uno de los segmentos en que se dividen naturalmente ciertos frutos secos como el esquizocarpo.

Meristemo apical: Usado en ensayos de semillas, para designar el principal punto de crecimiento del tallo de la plántula.

Plúmula: Propiamente el brote inicial del embrión pero se usa en ensayos de semillas para designar la yema terminal de la plántula.

Tegumento o Testa: La cubierta más externa de una verdadera semilla.

Manual de Ensayos de Semillas Forestales
Recopilación de Información:

Adriana Antonio Bautista

Edición 2012

Secretaría de Medio Ambiente

www.sema.gob.mx

ISBN-978-607-95357



Análisis sanitarios a semillas de pino piñonero para observar hongos de almacén



Selección de árboles productores de semilla



Almacenamiento de semillas con humedad y temperatura controlada

Amigo silvicultor

La conservación, aprovechamiento y recuperación de los recursos naturales es uno de los compromisos del Gobierno del Estado de Coahuila de Zaragoza con la finalidad de privilegiar el aprovechamiento sustentable y el bienestar social, a través de la cultura ambiental, la conservación y la recuperación de los recursos naturales, con un enfoque de racionalidad y armonía con el medio ambiente.

Por ello, con la finalidad de preservar el patrimonio natural, a través del uso racional de los recursos naturales trabajamos en diversas acciones para impulsar la conservación y recuperación de los ecosistemas forestales. A través de este manual ofrecemos una herramienta útil para quienes están involucrados en el manejo de los recursos naturales, en especial para quienes están inmersos en el ámbito forestal.

Tu participación es necesaria para el fomento de una cultura ambiental en nuestro Estado. Este manual queda en tus manos para que puedas participar activamente en el proyecto ambiental del Gobierno del Estado de Coahuila de Zaragoza.

Gobierno del Estado



Plántulas normales de *Chilopsis linearis*



Plántulas anormales de *Chilopsis linearis*



Plántulas normales de *Ceratonia siliqua*



Plántulas anormales de *Ceratonia siliqua*



Plántulas normales de *Atriplex canescens*



Plántulas anormales de *Atriplex canescens*

CONTENIDO

Introducción	3
Análisis físicos	5
Muestreo	5
Registro y homogenización	7
Pureza física	9
Porcentaje de semillas vanas	14
Peso de mil semillas	16
Contenido de humedad	17
Análisis fisiológicos	19
Viabilidad	19
Germinación	22
Métodos para romper latencia	29
Análisis sanitarios	31
Sin incubación	31
Con incubación	32
Bibliografía	35
Anexo 1	37
Anexo 2	49
Glosario	55



Plántula normal de Quercus rubra.



Evaluación de la germinación en Quercus rubra.



1-6 Semilla viables
7-12 Semillas no viables



1-6 Semilla viables
7-12 Semillas no viables



Semillas viables con el eje embrionario extraído



Semillas no viables con el eje embrionario extraído



Semillas de Pinus cembroides



Plántulas normales de Pinus cembroides



Plántulas anormales de Pinus cembroides



Semillas Muertas de Pinus cembroides



Plántulas normales de Pinus ayacahuite



Plántulas anormales de Pinus ayacahuite

INTRODUCCIÓN

Las semillas forestales son consideradas como la fuente más importante de germoplasma primario y hasta el momento constituye el material mayormente utilizado para la producción masiva de plantas, por lo que se requiere semilla con las características básicas de calidad, fisiológica, genética, física y sanitarias deseadas, para que ello repercuta en un mayor éxito de las repoblaciones y la homogenización de nuevos individuos.

Para que los viveristas determinen la calidad de la semilla, es necesario que puedan contar con información básica, necesaria, pruebas rápidas, sencillas y confiables que permitan conocer el estado real de la semilla a sembrar y con ello tomar decisiones sobre la producción de planta en el vivero.

La calidad de la semilla es un factor importante a considerar en la producción de plantas ya que asegura un establecimiento uniforme en el campo y fundamenta un manejo adecuado de la especie vegetal.

ANEXO 2

ANÁLISIS FÍSICOS

MUESTREO

Los muestreos pueden ser hechos tantas veces como sean necesarios y en el momento adecuado, el tipo de muestra y los análisis a realizar dependen de la especie, etapa y factor que se desea controlar, haciéndose esto en referencia a un lote, lo cual se entiende como una área, cantidad o volumen específico de semillas, semilla a granel o envasada, que sea identificada físicamente y que corresponda a una sola especie.

Objetivo

El muestreo es una herramienta fundamental para conocer la condición de lote de semillas, al obtener muestras de un tamaño adecuado y que sean representativas del lote de semillas.

Materiales y equipos

El material y equipo dependerá de cada especie, etapa, tipo de semilla y punto en que se tome la muestra.

- Caladores tubulares de diferentes diámetros y longitudes.
- Cubetas y /o charolas de tamaño apropiado.
- Bolsas de tela o papel.

Procedimiento

1. Introducir suavemente el calador con el orificio hacia abajo y en un ángulo de 30 grados con respecto de la horizontal del saco.
2. Alcanzando el centro, se da un giro de 180 grados para que la semilla entre al calador.
3. Se procede a sacar el calador suavemente.
4. La muestra de semilla se envía a la bolsa y posteriormente se traslada al laboratorio

Intensidad de muestreo

Ésto corresponde al número de muestras primarias que se deben tomar de un lote de semillas. Para formar la muestra compuesta, se debe conocer el número de sacos por lote, o bien, el volumen del granel, ya que el número de muestras primarias depende del tamaño del lote.

De acuerdo a las reglas para análisis de semillas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2004) la intensidad del muestreo se describe en las tablas siguientes:

No. de sacos	No. de sacos a muestrear
1-5	Todos o al menos 5 muestras primarias. 5 o al menos 1 en cada 3 al azar*. 10 o al menos 1 de cada 5 al azar*. 80 o al menos 1 en cada 7 al azar*.
6-30	
31-400	
401-a más	

*siempre el mayor

Tamaño del lote semilla a granel	Puntos a muestrear
Hasta 500 Kg. 501-3,000 Kg. 3001-20000 Kg. 20001 - a más Kg.	Al menos 5 muestras primarias (5 posiciones). 1 muestra primaria por cada 300 Kg. pero no menos de 5. 1 muestra primaria por cada 500 Kg. pero no menos de 10. 1 muestra primaria por cada 700 Kg. pero no menos de 40.

De acuerdo a las reglas de análisis de la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1993), la intensidad de muestreo se describe en las tablas siguientes:

Sacos	No. de sacos a muestrear
1-6	Cada uno o 5 muestras primarias. 5 sacos más 10 %.
6 a más	

No. de envases	Muestras primarias
7	6
10	6
23	7
50	10
100	15
200	25
300	30
400	30

Los sacos y envases a muestrear o las posiciones en el granel serán escogidos al azar, variando el muestreo de la parte superior, media o inferior de los envases asignados, muestreando en sólo uno de estos puntos.

Especies que presentan algún tipo de latencia y que son trabajadas en el Banco de Germoplasma.

Especie	Tratamiento	Duración
Acacia farnesiana	1	En semillas de reciente colecta de 2 a 3 hrs. Y de colecta de 2 años anteriores de 40 a 60 min.
Prosopis glandulosa	2	Hasta que el agua vuelva tomar la temperatura ambiente.
Shopora secundiflora	1	De 1 a 1.5 hrs.
Juniperus sp.	3	Por un período de 60 días.
Atriplex canescens	3	Por un período de 60 días en semillas recién colectadas y de colecta de dos años anteriores de 20 a 30 días.
Ceratonia siliqua	2	Hasta que el agua vuelva a tomar la temperatura ambiente.
Dasyliirion cedrosanum	2	Hasta que el agua vuelva a tomar la temperatura ambiente.

- 1 Sumergir en ácido sulfúrico concentrado
- 2 Sumergir en agua muy caliente
- 3 Estratificación en frío a -7ª C

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper Latencia
<i>Taxodium distichum</i> (L.) Rich	Sabino	S	20-30	7	28	Preenfriar 30 días de 3-5°C.
<i>Taxodium macronatum</i>	Sabino	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
<i>Taxus</i> spp.		S	20-30	7	28	Preenfriar 9 meses de 3-5°C.
<i>Tecoma stans</i>	San Pedro	SP	20-25	14	21	Sin tratamiento.
<i>Thuja occidentalis</i> L. f.	Thuja	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Thuja orientalis</i> L.	Thuja	SP	2-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Ulmus americana</i> L.		SP	20-25	7	14	Remover el pericarpio.
<i>Washingtonia</i> sp	Palma de abanico	SP	20-25	14	28	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
<i>Yucca carnerosana</i>	Palma samandoca	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
<i>Yucca filifera</i>	Palma china	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.

SP: SOBRE PAPEL
 EP: ENTRE PAPEL
 A: ARENA O PEAT MOST



Muestreo de semillas en costales



Muestreo de semillas a granel

REGISTRO Y HOMOGENIZACIÓN

Una vez obtenida la muestra, se realiza el registro en el cual se toman en cuenta todos los parámetros que puedan distinguir las muestras, es decir, todos los datos importantes de la especie, tamaño de muestra, colecta, lote, etc.

La homogenización es la mezcla de muestras primarias para obtener una muestra de envío o mezcla de una muestra de envío. Para obtener la muestra de trabajo que se refiere a mezclar uniformemente la muestra y reducir al tamaño deseado.

La muestra de envío, ya en el laboratorio, es necesario homogenizarla y reducirla a la muestra de trabajo en la que se harán las determinaciones de calidad, donde se tomará el peso requerido o especificado en la reglas de ISTA. Para esta homogenización y división se hace uso de equipo, que puede ser mediante los métodos y aparatos siguientes:

Método de divisores mecánicos

Éste es adecuado para toda clase de semillas, excepto para aquéllas extremadamente brozosas. Los aparatos dividen la muestra en aproximadamente dos partes iguales. La muestra de envío es mezclada, pasándola en el divisor, recombinando las dos partes y pasando la muestra compuesta una segunda vez.



Divisor tipo Boerner



División manual

La muestra es dividida, pasando la semilla nuevamente repetidas veces y removiendo una mitad cada vez. Este proceso de división sucesiva, se continúa hasta obtener la muestra de trabajo del tamaño aproximado, sin ser menos del tamaño requerido.

Divisor cónico o de tipo Boerner

Este aparato homogenizador consta de: una tolva, cono y una serie de canales que dirigen la semilla hacia dos conductos. Una desventaja para este divisor es su dificultad para verificar su limpieza, para ello es conveniente evitar que la semilla se atore en la válvula.

Divisor de suelo o de tipo Rifle

Este aparato consta de: tolva con o sin válvula o compuerta, área de canales, salida y charola de reciba. Tiene el mismo principio del Boerner, sus canales están arreglados en línea recta.

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper Latencia
Prosopis glandulosa semilla desnuda	Mezquite	SP	20-25	7	14	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
Prunus avium	Ciruelo	SP	20-30	3	10	
Prunus amigdalus	Ciruelo					
Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco	Oyamel	SP	20-30	7	21	Preenfriar a 21 días de 3-5 °C.
Pseudotsuga sp	Oyamel rojo	SP	20-25	7	21	Sin tratamiento.
Ptelea trifoliata	Pinacale	SP	20-30			
Quercus spp.	Encino	A	20	7	28	Preenfriar en sustrato húmedo por 12 meses.
Rosa spp	Rosal	SP	20-30	7	14	- Remojo por 3 hrs. en sosa cáustica al 4%, enseguida se deja en remojo en agua a temperatura ambiente por 24 hrs. - Sin tratamiento.
Schinus molle	Pitruil	SP	20-25	14	28	
Shopora japonica L.		SP	20-30	7	28	
Shopara secundiflora	Colorin	EP	20-25	7	28	Sumergir en H ₂ SO ₄ concentrado por 3 hrs. Sacarlas y lavarlas con mucha agua. Sin tratamiento.
Spatodea campanulata		SP, EP	20-25	14	28	
Spheroale funifera	Samandoque	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
Tabebuia rosea		EP	20-25	14	21	Sin tratamiento.

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
<i>Pinus johannis</i>	Pino	EP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
<i>Pinus lambertiana</i> Douglas		A, EP	20-30	7	28	
<i>Pinus oocarpa</i> Schiede exSchldl.	Pino ocarpa	SP, EP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Pinus patula</i> Schiede exSchldl & cham	Pino amarillo mexicano	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Pinus piniceana</i> Gord		EP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
<i>Pinus pinea</i> L.	Pino de piedra	SP	20	7	28	Remojar con agua un día antes de la prueba.
<i>Pinus ponderosa</i> P. Lawson & C. Lawson		SP	20-30	7	21	Preenfriar de 3-5 °C.
<i>Pinus pumila</i> (Pall.) Regel	Pino ponderosa	SP	20-30	7	21	Preenfriar por 4 meses a 3-5 °C.
<i>Pinus radiata</i> D. Don.	Pino de Monterrey	SP	20	7	28	Sin tratamiento.
<i>Pinus rudis</i>	Pino rudo	SP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
<i>Pinus teocote</i> var. Schl	Pino ocole	SP	20-25	7	14	Sin tratamiento.
<i>Pinus pseudostrobus</i> forma megacarpa		SP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
<i>Platanus</i> spp	Sicomoro	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Populus</i> spp	Alamo	SP	20-30	3	10	Sin tratamiento.
<i>Prosopis glandulosa</i>	Mezquite	SP	20-25	7	21	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.

ANÁLISIS DE PUREZA FÍSICA

Es un análisis que se lleva a cabo durante la recepción de la materia prima, procedente de campo, con el objetivo de recomendar algún proceso de beneficio especial, dicho análisis se realiza nuevamente durante el acondicionamiento para la calibración del proceso, y finalmente se hace a toda la semilla acondicionada, antes de su envasado para llevar a cabo su comercialización.

En forma general, el análisis de pureza física consiste en examinar una muestra de trabajo de un peso, especificado en reglas de análisis, y separarla en tres componentes: semilla pura, semillas de otras especies y materia inerte.

Semilla pura. Semilla en cuestión o que predomina en la muestra e incluye las variedades botánicas y mejoradas de esa especie; además semilla manchada, semilla quebrada (mayor de la mitad), semilla germinada, semilla inmadura, enfermas o germinadas.

- Semilla verdadera.
- Cariópsides y flores individuales.
- Florecillas.
- Flósculos.
- Unidades múltiples pastos (flor fértil más ciertas estructuras como glumas, flores estériles, aristas, etc).
- Semillas pequeñas.
- Semilla chupada.
- Semilla inmadura.
- Semilla manchada.
- Semilla germinada.
- Semillas rotas o dañadas más de ½, excepto leguminosas y crucíferas con testa removida.
- Semilla dañada por insecto cuando el daño no es demasiado obvio.
- Fragmentos de aquenios y pericarpios mayores de la mitad.
- Semillas llenas o no.
- Aquenios, esquizocarpos, mericarpos que contengan o no semilla.

Semillas de otras especies. Semillas de otras especies de las características consideradas para semilla pura, unidades de semilla de cualquier especie de plantas diferentes, que generalmente están contaminando un lote o muestra determinada de una especie de semilla.

- Semilla de especies cultivadas.
- Semillas de malezas: comunes y nocivas.
- Estas semillas extrañas son otras, pero siguen los mismos criterios de semilla pura.

Materia inerte

Todo material considerado impureza, que no fue clasificado en los dos componentes anteriores. La materia inerte deberá incluir semillas que no sean definidas como puras, estructuras semejantes a semilla, tanto de cultivos como de hierbas.

- Semilla con testa completamente removida.
- Pedazos de semillas (semillas puras u otras semilla), igual o menos de la mitad.
- Semilla dañada por insecto menos de la mitad.
- Cotiledones separados.
- Basura.
- Alas de algunas coníferas.
- Tierra.
- Paja.
- Insectos, etc.

Metodología

Muestra de trabajo

El análisis de pureza deberá ser hecho en una muestra de trabajo tomada de la muestra de envío de acuerdo a las reglas de la ISTA. El peso de una muestra de trabajo se debe considerar que tenga como mínimo 2500 semillas.

Separación de la muestra de trabajo

La muestra de trabajo, después de pesarla, deberá ser separada en sus componentes ya definidos (materia inerte, semilla pura y semilla de otras especies).

Especte	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper Latencia
Nolina cespifera	Cortadillo	EP	20-25	7	21	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
Phoenix dactilifera	Palma datilera	EP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
Phytocantha coccinea	Piracantho	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
Picea engelmannii Parry ex Engelm	Picea	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Picea mariana (Mill.) Britton et al.	Picea	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Pinus arizonica var. Stormiae				7	28	Sin tratamiento.
Pinus ayacahuite var. brachyptera	Pino vikingo	EP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
Pinus banksiana Lamb.	Pino gato	SP	20-30	7	14	- - -
Pinus caribaea Morelet.	Pino cubano	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Pinus cembroides Zucc.	Pino piñonero	EP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
Pinus contorta Douglas ex Loudon.	Pino de orilla	SP	20-30	7	21	Preenfriar 21 días de 3-5 °C.
Pinus culminicola Andresen	Pino	EP	20-25	7	28	Sin tratamiento.
Pinus flexilis E. James		SP	20-30	7	21	Preenfriar 21 días de 3-5 °C.
Pinus greggii Engelm	Pino prieto	SP	20	7	28	Sin tratamiento.
Pinus halepensis Mill.		SP	20	7	28	Sin tratamiento.

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
Juniperus monosperma	Junipero/ tascate	SP	20-25	7	30-35	Estratificación (4), por 1 mes.
Juniperus virginiana L.	Junipero/ tascate	SP	15	14	42	Pretratamiento por 60 días a 20 °C seguido de 40 días a 3-5 °C.
Koeleuteria paniculata	Sombrilla china	SP	15	14	28	Sin tratamiento.
Leucaena leucocephala	Huajillo	EP	20-25	14	21	
Ligustrum japonicum	Troeno semilla	SP	20-25	21	36	Remojo por 24 hrs. en agua a temperatura ambiente.
Ligustrum japonicum	Troeno fruto	SP	20-25	21	36	Remojo por 24 hrs. en agua a temperatura ambiente.
Ligustrum vulgare L.	Troeno	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Lippia graveolens H.B.K	Oregano	SP	20-25	7	21	Sin tratamiento.
Liquidambar styraciflua L.	Goma dulce	SP	20-30	7	21	Sensible a secarse en la prueba.
Liquidambar tulipifera.	Goma dulce	SP	20-30	7	21	
Malus spp.		SP	20-30	7	28	
Malus sargentii Rehder		SP	20-30	7	28	
Malva sylvestris L.		SP	20-30	7	28	
Melia azedarach	Lila fruto	A	20-25	28	36	Sin tratamiento.
Melia azedarach	Lila	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
Morus spp.	Mora	SP	20-30	14	28	Sin tratamiento.

Cálculo y expresión de resultados

Sumar todos los pesos de las fracciones de los componentes de la muestra de trabajo. Esta suma deberá compararse con el peso original de la muestra. El porcentaje se calcula de la siguiente manera: el peso del componente entre la suma de los pesos de las fracciones de los componentes por 100.

Tamaño de la muestra	No. de Decimales
Menor de 1.0 gr.	4
1.0 - 9.9 gr.	3
10.0 - 99.9 gr.	2
100.0 - 999.9 gr	1
1000.0 - mayor	0

El resultado del análisis de pureza deberá ser dado a un lugar decimal y el porcentaje de todos sus componentes deberá sumar 100. Los porcentajes de semilla pura, semilla de otras especies y materia inerte, deberán ser reportados en cada espacio provisto. Si el resultado para un componente es nulo, este se reporta como 0.0 en el formato del reporte correspondiente.



Separación de los componentes

$$\text{Pureza \%} = \frac{\text{Peso del componente}}{\text{Peso total de la muestra}} \times 100$$

Tamaños de la muestra según la ISTA 2004

Especie	Tamaño máximo del lote (kg)	Muestra de envío (gr)	Muestra de trabajo para análisis de pureza (gr)
<i>Abies alba</i> Mill	1000	240	120
<i>Abies amabilis</i> Douglas ex. J.Forbes	1000	200	100
<i>Abies balsamea</i> (L.) Mill	1000	40	20
<i>Abies Cephalonica</i> Loudon	1000	360	180
<i>Abies cilicica</i> (Antonie & Kotschy) Carriere	1000	1000	500
<i>Abies concolor</i> (Gordon & Glend)	1000	160	80
<i>Abies firma</i> Siebold & Zucc	1000	200	100
<i>Abies fraseri</i> (Pursh) Poir	1000	40	20
<i>Abies grandis</i> (Douglas ex D. Don) Lindl	1000	100	50
<i>Abies homolepis</i> Siebold & Zucc.	1000	80	40
<i>Abies vejari</i>	500	100	55
<i>Acacia farnesiana</i>	35	140	70
<i>Acacia</i> sp.	1000	70	35
<i>Acer campestre</i> L.	1000	400	200
<i>Acer negundo</i> L.	500	200	100
<i>Acer palmatum</i> Thunb	500	100	50
<i>Agave atrovirens</i>	100	140	70
<i>Agave asperrima</i>	100	14	7
<i>Agave salmiana</i>	100	70	35
<i>Agave</i> spp *	100	70	35
<i>Agave victoriae-reginae</i>	100	15	7
<i>Alnus cordata</i> (Loisel.) Duby	1000	12	6
<i>Alnus rubra</i>	1000	1000	150
<i>Arbutus xalapensis</i>	100	16	8
<i>Arctostaphylos pungens</i>	500	120	60
<i>Atriplex canescens</i> *	500	50	25
<i>Atriplex canescens</i>	1000	120	60
<i>Betula papyrifera</i> Marshall	300	10	3
<i>Betula pubescens</i> Ehrh	300	10	1
<i>Brehae dulcis</i>	1000	1100	550
<i>Cassuarina equisetifolia</i>	100	4	2
<i>Cedrela</i> spp	1000	120	60
<i>Celtis laevigata</i>	1000	600	300
<i>Ceratonia siliqua</i>	1000	850	425
<i>Cercis canadensis</i>	60	120	250
<i>Chilopsis linaeris</i> *	100	14	7
<i>Crataegus bourosuna</i> *	100	400	200
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	1000	400	200
<i>Cupressus arizonica</i> Greene	1000	60	30
<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartw. Ex Gordon	1000	60	20
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	1000	40	20
<i>Dasyliirion cedrosanum</i> *	1000	80	40
<i>Dasyliirion cedrosanum</i> *	500	50	25
<i>Delonix regia</i> *	1000	2200	1100
<i>Echinocactus</i> sp *	50	10	5
<i>Enterolobium ciclocarpum</i>	1000	2200	1100
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill	1000	60	20
<i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden	1000	15	5
<i>Eucalyptus radiata</i> Sieber ex DC.	1000	40	15
<i>Eucalyptus robusta</i> Sm	1000	15	5
<i>Eucalyptus rudis</i> Endl	1000	15	5
<i>Fraxinus greggi</i> *	200	40	20
<i>Fraxinus</i> spp.	1000	400	200
<i>Ginkgo biloba</i> L.	5000	500 semillas	500 semillas
<i>Hunnemannia fumarifolia</i> *	500	22	11

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	2° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
<i>Delonix regia</i>	Tabachín, framboyan	EP	20-25	28	28	Sumergir la semilla en H ₂ SO ₄ por 60-120 min, o hasta que pierdan su brillo.
<i>Echinocactus</i> sp	Biznaga burra	SP	20-25	28	28	Sin tratamiento.
<i>Enterolobium ciclocarpum</i>	Parola, orejón	EP	20-25	28	28	Sumergir la semilla en H ₂ SO ₄ por 60-120 min, o hasta que pierdan su brillo.
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill	Eucalipto	SP, A	20-30	14	14	1 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden	Eucalipto	SP, A	20-30	5	5	0.10 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Eucalyptus radiata</i> Sieber ex DC.	Eucalipto	SP, A	20-30	5	5	0.50 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Eucalyptus robusta</i> Sm	Eucalipto	SP	20-30	14	14	0.10 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Eucalyptus rudis</i> Endl	Eucalipto	SP	20-30	7	7	0.10 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Fraxinus greggii</i>	Fresno	EP	20-25	5	5	0.10 gr. Por repetición para la siembra/ preenfriar 21 días a 3-5 °C o no preenfriar.
<i>Fraxinus</i> spp.	Fresno	SP, EP, A	3-5	7	7	Sin tratamiento.
<i>Ginkgo biloba</i> L.		SP, EP	20-30	28	30	Pretratamiento por 2 meses a 20°C seguido de por 7 meses de 3-5 °C. Remover la capa de la semilla.
<i>Hunnemannia fumarifolia</i>	Puerto de flores	SP	20-30	10	10	
<i>Juniperus communis</i> L. semilla	Junipero/ tascale	SP, A	20	7	7	Preenfriar 90 días a 3-5 °C.
<i>Juniperus deppeana</i>	Junipero/ tascale	SP	20-25	7	7	Estratificación en frío (4), por 1 mes.
<i>Juniperus flaccida</i>	Junipero/ tascale	SP	20-25	7	7	Estratificación en frío (4), por 1 mes.

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	2° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
<i>Betula pubescens</i> Ehrh	Abedul	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
<i>Brehae dulcis</i>	Palmito	EP	20-25			
<i>Cassuarina equisetifolia</i>	Casuarina	SP	20-25	14	28	Sin tratamiento.
<i>Cedrela</i> spp	Cedro	SP	20-30	7	28	Sin tratamiento.
<i>Cellis laevigata</i>	Palo blanco	SP	20-25	14	28	Estratificación a 10-15 °C por 30 días.
<i>Ceratonia siliqua</i>	Algarrobo	EP	20-25			Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
<i>Cercis canadensis</i>	Duraznillo	EP, SP		7	21	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
<i>Chilopsis linaeiris</i>	Mimbres	SP	20-25	14	21	Sin tratamiento.
<i>Crataegus boursuna</i>	Tejocote	SP	20-25			
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.		A	20-30	7	28	
<i>Cupressus arizonica</i> Greene	Cipres de Arizona	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartw. Ex Gordon	Cipres de Monterrey	SP	20-30	14	35	Sin tratamiento.
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Cipres	SP	20	7	28	Sin tratamiento.
<i>Dasyliroton cedrosanum</i> semilla desnuda	Sotol	SP	20-25	7	14	Sin tratamiento.
<i>Dasyliroton cedrosanum</i>	Sotol	SP	20-25	7	21	Sin tratamiento.

Tamaños de la muestra según la ISTA 2004

Especie	Tamaño máximo del lote (Kg)	Muestra de envío (gr)	Muestra de trabajo para análisis de pureza (gr)
<i>Juniperus communis</i> L.			
fruto	1000	300	150
Semilla	1000	40	20
<i>Juniperus deppeana</i>	100	250	110
<i>Juniperus flaccida</i> *	100	250	110
<i>Juniperus monosperma</i>	100	250	110
<i>Juniperus virginiana</i> L.	1000	100	50
<i>Koelreuteria paniculata</i>	1000	800	400
<i>Leucaena leucocephala</i> *	500	200	100
<i>Ligustrum japonicum</i> *	100	50	100
<i>Ligustrum japonicum</i> (en fruto) *	500	300	150
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	1000	100	50
<i>Liquidambar tulipifera</i> L.	1000	180	90
<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	300	30	15
<i>Lippia graveolens</i> H.B.K	50	5	2
<i>Lippia graveolens</i> H.B.K	50	5	2
<i>Malus</i> spp.	1000	50	25
<i>Malus sargentii</i> Rehder	1000	24	12
<i>Malva sylvestris</i> L.	5000	30	15
<i>Melia azedarach</i> (en fruto) *	1000	3000	1500
<i>Melia azedarach</i> *	500	110	55
<i>Morus</i> spp.	1000	20	5
<i>Nolina cespitifera</i> *	500	250	110
<i>Phoenix dactylifera</i> *	1000	3000	1500
<i>Phyrcantha coccinea</i> *	100	30	15
<i>Ptelea trifoliata</i> *	50	170	85
<i>Picea engelmannii</i> Parry ex Engelm	1000	16	8
<i>Picea mariana</i> (Mill.) Britton et al.	1000	6	3
<i>Pinus arizonica</i> var. <i>Stormiae</i>	1000	200	85
<i>Pinus ayacahuite</i> var. <i>brachyptera</i>	1000	1500	700
<i>Pinus banksiana</i> Lamb.	1000	25	9
<i>Pinus caribaea</i> Morelet.	1000	100	50
<i>Pinus cembroides</i> Zucc.	1000	1000	700
<i>Pinus contorta</i> Douglas ex. Loudon.	1000	25	9
<i>Pinus culminicola</i> Andresen *	1000	1800	900
<i>Pinus greggii</i> Engelm	100	50	25
<i>Pinus flexilis</i> E. James	1000	500	250
<i>Pinus halepensis</i> Mill.	1000	100	50
<i>Pinus johannis</i> *	1000	1700	850
<i>Pinus lambertiana</i> Douglas	1000	1000	500
<i>Pinus oocarpa</i> Schiede ex Schldt.	1000	70	35
<i>Pinus patula</i> Schiede ex Schldt & cham	1000	40	20
<i>Pinus pinea</i> L.	1000	1000	1000
<i>Pinus pinceana</i> Gord	1000	1900	950
<i>Pinus ponderosa</i> P. Lawson & C. Lawson	1000	200	100
<i>Pinus pseudostrobus</i> forma <i>megacarpa</i> *	100	140	65
<i>Pinus pumila</i> (Pall.)Regel	1000	40	20
<i>Pinus radiata</i> D. Don.	1000	160	80
<i>Pinus rudis</i>	500	150	75
<i>Pinus teocote</i> var. <i>Schl</i>	50	200	98
<i>Platanus</i> spp	1000	25	6
<i>Populus</i> spp	50	5	2
<i>Prosopis glandulosa</i> , semilla desnuda *	1000	200	90
<i>Prosopis glandulosa</i> *	1000	200	100
<i>Prunus amigdalus</i>	1000	900	450
<i>Prunus avium</i>	1000	900	450
<i>Pseudotsuga</i> sp	100	80	40

Tamaños de la muestra según la ISTA 2004

Especie	Tamaño máximo del lote (Kg)	Muestra de envío (gr)	Muestra de trabajo para análisis de pureza (gr)
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	1000	90	60
<i>Quercus</i> spp.	5000	500 semillas	500 semillas
<i>Rosa</i> spp	1000	50	25
<i>Schinus molle</i> *	100	200	100
<i>Shopora japonica</i> L.	1000	100	50
<i>Shopara secundiflora</i>	1000	3800	1900
<i>Spatodea campanulata</i>	100	30	15
<i>Spheroale funifera</i> *	1000	120	60
<i>Tabebuia rosea</i> *	100	400	200
<i>Taxodium distichum</i> (L.) Rich	300	500	250
<i>Taxodium macronatum</i>	40	80	160
<i>Taxus</i> spp.	1000	320	160
<i>Tecoma stans</i> *	100	40	20
<i>Tectona grandis</i>	1000	2000	1000
<i>Thuja occidentalis</i> L. f.	1000	25	4
<i>Thuja orientalis</i> L.	1000	120	60
<i>Ulmus americana</i> L.	1000	30	15
<i>Washingtonia</i> sp *	500	520	260
<i>Yucca carerosana</i> *	60	120	250
<i>Yucca filifera</i> *	200	400	800

* Especies que no aparecen en la Regla de la ISTA, pero que siguiendo la normativa de la regla, se consideran estos pesos para la muestra de trabajo.

PORCENTAJE DE SEMILLAS VANAS

Esta prueba se puede realizar en tres métodos, los cuales son:

Soplado:

Éste se realiza a través de un soplador, el cual se calibra la abertura según la especie y se inicia el soplado por 2 minutos. Ésto se realiza en semilla que consideramos como pura en el análisis de pureza.

(*Pinus greggii*, *Pseudotsuga flahualtii*, *Dasylyrion cedrosanum*, etc.)



Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	2° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
Agave asperima	Magüey del monte	EP	20-25	7	14	Sin tratamiento.
Agave salmiana	Magüey aguamielero	EP	20-25	7	14	Sin tratamiento.
Agave spp	Magüey	EP	20-25	7	14	Sin tratamiento.
Agave victoriae-reginae	Noha	SP	25-30	7	14	Sin tratamiento.
Acer campestre L.	Arce	SP	20-30	7	21	
Acer negundo L.	Arce	SP-A	20-30	7	21	
Acer palmatum Thunb	Arce	SP	20	7	21	
Alnus cordata (Loisel.) Duby	Aliso	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Alnus rubra	Aliso rojo	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.
Arbutus xalapensis	Madroño	SP	20-30			
Arctostaphylos pungens	Manzanita	SP	20-25	14	21	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
Atriplex canescens	Costilla de vaca	SP	20-25	7	28	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente. En semillas frescas se recomienda estratificar en frío (5), por 30-60 días y posteriormente remojar.
Atriplex canescens semilla desnuda	Costilla de vaca	SP	20-25	7	21	Remojo en agua caliente hasta que llegue a temperatura ambiente.
Betula papyrifera Marshall	Abedul de papel	SP	20-30	7	21	Sin tratamiento.

Especie	Nombre Común	Sustrato	Temp. °C	1° Conteo Días	2° Conteo Días	Recomendaciones para romper latencia
<i>Abies alba</i> Mill	Abeto de plata	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies amabilis</i> Douglas ex. J. Forbes	Abeto de plata pacífico	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies balsamea</i> (L.) Mill	Abeto	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies Cephalonica</i> Loudon		SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies cilicica</i> (Antonie & Kotschy) Carrière		SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies concolor</i> (Gordon & Glend)	Abeto blanco	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies firma</i> Siebold & Zucc	Abeto japonés	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies fraseri</i> (Pursh) Poir	Abeto	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies grandis</i> (Douglas ex D. Don) Lindl	Abeto	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies homolepis</i> Siebold & Zucc.	Abeto	SP	20-30	7	28	Preenfriar 21 días con 3-5 °C.
<i>Abies vejarii</i>	Oyamel, Abeto	SP	20-25	7	21	Sin tratamiento/recomendable almacenar antes de la prueba.
<i>Acacia farnesiana</i>	Huizache	EP	20-25	7	21	Sumergir la semilla en H ₂ SO ₄ por 60-120min, hasta que pierdan su brillo.
<i>Acacia</i> sp.		SP, EP	20-30	7	21	Sumergir la semilla en H ₂ SO ₄ por 60-120 min. o hasta que pierdan su brillo. En semillas frescas sumergir de 4-5 hrs. es lo más recomendable. Lavar con agua corriente después del tratamiento.
<i>Agave atrovirens</i>	Maquey azuloso	EP	20-25	7	14	Sin tratamiento.

Alcohol:

En este método se toman cuatro repeticiones de 100 semillas que consideramos puras, y se someten en alcohol por poco menos de un minuto, quedando las semillas vanas en la parte superior del recipiente. Éstas se cuentan y se hace una relación para ser reportada en porcentaje (*Pinus cembroides*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus pinceana*, *Pinus culminicola*, *Pinus johannis*).



Partido:

Esta prueba se realiza cuando la semilla, por su tipo de estructura, no permite hacerlo de las dos formas anteriores. Se realiza un corte en la semilla permitiendo observar las estructuras internas presentes o ausentes. Se toman cuatro repeticiones de 100 semillas. Se parten y se reporta en porcentaje (*Atriplex canescens*).



PESO DE MIL SEMILLAS

El peso de mil semillas se utiliza para determinar la cantidad necesaria de semilla para lograr un número de plantas predeterminado, éste es variable y está determinado en gran parte por las condiciones ambientales en que se desarrollan los árboles.

Así mismo, entre especies hay diferencias en el peso de 1000 semillas, debido a los diferentes tamaños de las semillas.

Procedimiento

1. Puede llevarse a cabo en la totalidad de la semilla pura obtenida en el análisis de pureza.
2. O bien, en ocho repeticiones de 100 semillas cada una.

En el primer caso se cuenta la totalidad de la semilla pura y se pesa en gramos con el mismo número de cifras decimales que en el análisis de pureza.

En el segundo caso de la semilla pura obtenida en el análisis de pureza, se toman al azar ocho repeticiones de 100 semillas cada una, el conteo se realizará con un contador o manualmente. Cada una de las ocho repeticiones se pesarán en gramos con el mismo número de cifras decimales que en el análisis de pureza. Se calcula la varianza (S^2), la desviación típica (S) y el coeficiente de variación (CV).

$$S^2 = \frac{n(\text{sumatoria } X^2) - (\text{sumatoria } X)^2}{n(n-1)}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = \frac{S}{x} * 100$$

X = peso en gramos de cada repetición.

N = número de repeticiones

x = media del peso de 100 semillas.

ANEXO 1. Tratamientos y días a conteo en la evaluación de la germinación.

Si el coeficiente de variación CV no excede del 6.0 para semillas brozosas de *Atriplex canescens* o de 4.0 para otras, el resultado de la prueba puede ser calculado y aceptado. Si el coeficiente de variación excede de los límites mencionados, cuente y pese otras ocho repeticiones y calcule la desviación típica (S), para las 16 repeticiones. Descarte cualquier repetición que difiera de la media por más del doble de la desviación típica calculada.



CONTENIDO DE HUMEDAD

El contenido de humedad es uno de los factores más importantes que afectan las semillas. El efecto de la humedad sobre el mantenimiento de la calidad de semillas tiene aún mayor importancia. Semillas secas y sanas pueden ser mantenidas bajo almacenamiento apropiado por mucho más años; en tanto, semillas húmedas se pueden deteriorar en tan sólo unos cuantos días. Es bien conocido que el tiempo de almacenamiento de semillas disminuye a medida que el contenido de humedad aumenta. Así el contenido de humedad ha tenido un efecto dominante en el predominio y en la actividad de insectos y hongos durante el almacenamiento.

Este análisis puede ser determinado por dos métodos: el directo e indirecto.

El método directo, es por medio de la estufa. Este método es el más confiable. Se recomienda el secado de semillas a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un período de 17 horas o a una temperatura de $130\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un período de cuatro horas.

Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$(M2-M3) * \frac{100}{M2 - M1}$$

Donde:

M1 = peso en gramos de la caja de aluminio y su tapa.

M2 = peso en gramos de la caja, su tapa y la semilla entera.

M3 = peso en gramos de la caja su tapa y la semilla después del período de secado en la estufa.

Se expresa en porcentaje.

Los métodos indirectos son algunos aparatos electrónicos: MOTOMCO, DOLE, etc; para las especies con las cuales se trabaja, se tendría que realizar una serie de pruebas para calibrar estos aparatos.



BIBLIOGRAFÍA

Amaral, A.D. S. y Peske, S.T. 1984. pH exudado para estimar en 30 minutos, viabilidad de sementes desoja. Revista Brasileña de Sementes 6(3):85-92

Association Of Official Seed Analysts (1993). Journal Of Seed Technology. Volume16 Number 3. Bozeman, Montana.

Curso sobre recolección y manejo de germoplasma forestal ____ Programa Nacional de Reforestación.

Douglas, J.G. 1980. Successful seed Programes: A planning and management guide. Wetview Press. Boulder, Colorado. 1980.

Garay E. A. 1981. Calidad de la Semilla y su Importancia en la Productividad. Curso Tecnología de Semillas. Cali, Colombia.

International Seed Testing Association (1996). Rules for Seed Testing. Seed Sc. And Tech. 13 (2). The Netherlands.

International Seed Testing Association (2004). Rules for Seed Testing. Seed Sc. And Tech. 24 (Supplement).

Johnson, J.R. 1979. An Introduction to Seed Technology. Leonard Hill. Great Britain.

Moreno Martínez Ernesto (1996). Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas, Universidad Autónoma de México. Tercera Edición, México D.F.

Moreno, M. E. 1988. Manual para la identificación de Hongos en Granos de Almacenados y sus Derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1ª Edición.

Paquetes Tecnológicos _____. CONABIO-CONAFOR.

Paredes, M. G. 1999. Control de Calidad en la Producción de Semillas. Reunión de Trabajo Unidad de Control de Calidad. PRONASE Guadalajara. Agosto 1999.

Perritti, A. 1994. Manual para Análisis de Semillas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

Warham E. J., Butler L. D. Sutton B. C. Ensayos para la semilla de Maíz y Trigo, Manual de laboratorio. CIMMYT, México.

Para la preparación de un litro de medio se utiliza:

- 20 gramos de Agar Bacteriológico.
- 20 gramos de Extracto de Malta.
- 60 gramos de Cloruro de Sodio.
- Se mezclan en un matraz Erlenmeyer con agua destilada.
- Se coloca un tapón de algodón seguido de una envoltura de papel estraza.
- Se introduce el matraz en un autoclave a una presión de 18 libras/pulg² y 120°C por 15 min.
- Se vacía el medio en cajas petri estériles dentro de una cámara de flujo laminar y se guardan en un refrigerador hasta que vayan a ser utilizadas.

Modo de siembra en las placas de Agar

Se realizan tres repeticiones de 10 semillas, éstas deberán ser tomadas al azar de unas submuestras después de un mezclado completo. Se desinfectan las semillas con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, posteriormente se siembra en el medio y se incuba a 27° C por siete días.

Identificación de patógenos

Se pueden identificar a simple vista por la forma, tamaño y color de las colonias, de cada patógeno presente en la placa de agar con ayuda de literatura para su identificación.

Con una aguja de disección se toma una muestra del patógeno a identificar. Se coloca en un portaobjetos con una gota de lactofenol y se cubre delicadamente con un cubreobjetos. Se procede a ver en un microscopio compuesto con el objetivo de 10x para localizar la estructura del hongo, después con el objetivo 40x, para una mejor visión. Por último se identifica el hongo con ayuda de manuales de estructuras de hongos presentes. Todo esto se realiza cerca de una lámpara de alcohol para evitar contaminaciones.

ANÁLISIS FISIOLÓGICO

VIABILIDAD

Con Sal de Tetrazolio

Esta prueba se fundamenta en la reacción bioquímica de ciertas enzimas de las células vivas con la sal de tetrazolio, la cual consiste en la reducción de éste hasta formar un compuesto rojo llamado formazan.

Es útil para el análisis de semillas latentes, así como para complementar los datos obtenidos en una prueba de germinación y en el diagnóstico de las causas del deterioro de las semillas. Debe llevarse a cabo solamente con semillas que no muestren signos de brote de órganos germinales; es decir, que no hayan estado en condiciones adecuadas de humedad y temperatura para iniciar su germinación.

Materiales

- Solución de tetrazolio al 0.1 % y 1 %.
- Cajas petri.
- Pinzas.
- Bisturí.
- Papel aluminio.
- Lámpara con lupa.
- Estereoscopio.
- Agujas.

Metodología

La solución al 1.0% es usada para semillas que no han sido bisectadas y expuesto el embrión, mientras que la solución al 0.1% son utilizados en semillas donde el embrión es bisectado. También se utilizan otras concentraciones como 0.2 % o 0.5 %.

Se cuentan al azar 400 semillas. El número de repeticiones en la prueba dependerá de la premura y precisión con que se quiera obtener la información.

Acondicionamiento

Con excepción de semillas pequeñas y con testa permeable, las demás requieren de un acondicionamiento previo para facilitar el contacto de la solución con los embriones. Este acondicionamiento consiste en humedecer la semilla, la cual en algunas será suficiente para hacerlas permeables al paso de la solución de tetrazolio, y en otras será necesario realizar un corte o remover la testa y posteriormente humedecer para luego llevarla a la solución de tetrazolio.

En otras especies, el humedecimiento no es suficiente para permeabilizar su testa, pero facilita la bisección, punción o remoción de la testa.

Tinción

Para efectuar la tinción de las semillas hay que colocarlas en un recipiente acorde con su tamaño: vidrios de reloj para semilla pequeñas; cajas petri u otros recipientes como vasos de precipitado, para semillas más grandes. Éstas deberán quedar completamente cubiertas por la solución de tetrazolio.

Cubrir el recipiente con papel aluminio y poner en la estufa durante 18 horas a 30 grados.

Evaluación

La evaluación de la viabilidad de las semillas mediante la prueba de tetrazolio se puede hacer a través de las indicaciones del ISTA. Hay que enfatizar que existen tejidos esenciales para el desarrollo de una plántula normal, como lo son meristemas y demás estructuras reconocidas como vitales, para que al germinar las semillas, éstas den lugar a plántulas capaces de establecerse en campo y llegar hacer plantas productivas.

El analista debe concentrar su atención en los tejidos vitales (embrión y tejidos de reserva).

Preparación de medio de cultivo Agar Papa-Dextrosa (PDA)

Material:

- Agar Papa-Dextrosa.
- Agua destilada.
- Matraz Erlenmeyer.
- Mechero Fisher.
- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Campana de Flujo Laminar.
- Cajas Petri de plástico estériles.

Para la preparación de un litro de medio se utiliza:

- 39 gramos de PDA.
- Se disuelve en un matraz por calentamiento hasta que no haya grumos.
- Se coloca un tapón de algodón seguido de una envoltura de papel estraza.
- Se introduce el matraz en un autoclave a una presión de 18 libras/pulg² y 120°C por 15 min.
- Se vacía el medio en cajas petri estériles dentro de una cámara de flujo laminar y se guardan en un refrigerador hasta que vayan a ser utilizadas.

Preparación de medios de cultivo Malta Sal Agar (MSA)

Material:

- Agar Bacteriológico.
- Extracto de Malta.
- Cloruro de Sodio (Sal común).
- Agua destilada.
- Matraz Erlenmeyer.
- Mechero Fisher.
- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Campana de Flujo Laminar.
- Cajas Petri de plástico estériles.

EXAMINACIÓN CON INCUBACIÓN

Método de Placas de Agar

Son usadas para obtener crecimientos identificables de microorganismos en las semillas. Pueden emplearse medios de cultivo generales, que permitan el desarrollo de diversos patógenos, o bien, medios específicos que favorecen el desarrollo de determinados organismos.

Permiten el desarrollo de hongos y de síntomas. Existen variaciones en cuanto a las condiciones de incubación aunque en general las semillas de especies de zonas templadas se incuban entre 14°C y 20°C, los de zonas tropicales a 28°C. Se recomienda el uso de la luz ultravioleta durante 12 horas y 12 horas de oscuridad para favorecer la esporulación de los hongos.

Materiales

- Solución de hipoclorito de sodio (cloro común) al 2%.
- Alcohol etílico.
- Solución de lactofenol. Cajas Petri con PDA (agar papa-dextrosa).
- Cajas Petri con MSA (Malta Sal Agar).
- Papel filtro estéril.
- Algodón.
- Colador.
- Pinzas.
- Aguja de disección.
- Frasco con tapa.
- Lámpara de alcohol.
- Campana de Flujo Laminar.
- Incubadora a 23-25°C.
- Microscopio Compuesto.
- Microscopio Estereoscopio.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Cinta adhesiva transparente.

Viabilidad Mediante pH de Exudados

La prueba de pH de exudados es relativamente reciente en implementación. Fue propuesta por Amaral y Peske en 1985. Ha sido empleada con resultados favorables en soya, maíz, frijol; aunque es posible utilizarla en otras especies realizando los ajustes necesarios en las concentraciones de los reactivos y en el tiempo de remojo de la semilla.

La prueba se basa fundamentalmente en la determinación por medio de soluciones tituladoras colorimétricas del pH producido por los exudados de las semillas después de un período de remojo.

Cuando la semilla es de mala calidad presentará exudados altos que darán un pH ácido, mientras que semilla de buena calidad tendrá exudados bajos con un pH alcalino.

Material

- Charolas de plástico de 100 compartimentos individuales con capacidad de al menos 2.5 – 4 cm cúbicos cada uno.
- Agitador de vidrio.
- Dos goteros.
- Agua destilada (pH6-7).
- Fenolftaleina al 0.5 % (1 gr. De fenolftaleina en 100 ml. de alcohol más 100 ml. de agua destilada, más NaOH al 0.01 N, hasta adquirir tono rosa tenue).
- Carbonato de Sodio Na_2CO_3 al 0.16 % (0.16 g en 100 ml. de agua destilada).

Procedimiento

1. Colocar dos repeticiones de 100 semillas de la fracción de semilla pura, depositando una semilla par cada compartimiento de la charola.
2. Agregar 2 cm³ de agua destilada en cada compartimiento.
3. Dejar imbibir las semillas por espacio de 30 minutos a una temperatura ambiental. Posterior a la imbibición, colocar una gota de Na_2CO_3 y una gota de fenolftaleina.
4. Agitar durante dos segundos.

Procedimiento

1. Colocar dos repeticiones de 100 semillas de la fracción de semilla pura, depositando una semilla par cada compartimiento de la charola.
2. Agregar 2 cm³ de agua destilada en cada compartimiento.
3. Dejar imbibir las semillas por espacio de 30 minutos a una temperatura ambiental. Posterior a la imbibición, colocar una gota de Na₂CO₃ y una gota de fenolftaleína.
4. Agitar durante dos segundos.

Interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados se basa en las tonalidades de color rosa que alcance cada compartimiento. Una coloración rosa fuerte corresponderá a semillas con alta capacidad germinativa, que producirán plántulas normales; una coloración rosa tenue provendrá de semillas que originarán plántulas anormales y si existe ausencia de tinción, simplemente las semillas no tienen capacidad germinativa.

GERMINACIÓN ESTÁNDAR

La germinación en el laboratorio es la mayor emergencia y desarrollo de la plántula hasta un estado tal, donde el aspecto de sus estructuras esenciales manifiestan si la semilla es o no capaz de desarrollar una planta normal bajo condiciones favorables.

Este parámetro es utilizado para definir la densidad de plantas en campo.

ANÁLISIS SANITARIOS

La calidad de la semilla se ve fuertemente afectada por los hongos que se alojan en ellas causando diferentes daños; si la infección es muy severa, el daño puede ocasionar la muerte del embrión.

Todas las semillas son invadidas por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando severas pérdidas económicas al reducir el potencial fisiológico de las semillas.

La principal diferencia entre los “hongos de campo” y los “hongos de almacén” son los requerimientos de agua para crecer. Los hongos de almacén, especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, causan diversos daños a semillas almacenadas, siendo lo más sobresaliente la reducción del poder germinativo.

Objetivo

Determinar el nivel de sanidad de una muestra de semillas y determinar el tipo de tratamiento a seguir.

EXAMINACIÓN SIN INCUBACIÓN

Inspección externa- semilla seca.

Se basa en la limpieza de la semilla y los cambios externos que muestre como consecuencia del desarrollo del patógeno. Las semillas se observan en seco con la ayuda de una lupa o microscopio. Pueden distinguirse estructuras de hongos. También pueden observarse alteraciones de color, manchas, ennegrecimiento del embrión, presencia de crecimiento fungoso en la semilla, fructificaciones de hongos, etc.

Esta prueba también es realizada en la germinación, al observar estructuras de hongos en el sustrato.

PRINCIPIOS A SEGUIR EN PRUEBAS DE GERMINACIÓN DE ACUERDO A LAS REGLAS DE ANÁLISIS DE SEMILLAS

MUESTRA DE TRABAJO. Esta prueba se debe hacer con semilla resultante del análisis de pureza, es decir, semilla pura. Se deben poner 400 semillas distribuidas en cuatro repeticiones, en el sustrato correspondiente. En cuanto al número de semillas a utilizar en esta prueba, por lo general está definido por la reglas de la ISTA, existiendo algunas excepciones prácticas en especies donde la semilla es demasiado pequeña, pues en ellas es imposible o muy difícil separar la semilla de la materia inerte o granzas que la acompañan. En estos casos el ensayo se efectúa con el mismo número de réplicas, pero éstas son de igual peso y no de igual número de semillas.

- **SUSTRATO.** Para proveer humedad adecuada y sostén a las semillas durante el ensayo, existen diferentes tipos de sustratos para realizar esta prueba.

- a) **PAPEL.** La porosidad de este debe ser tal, que pueda retener la humedad y no tenga sustancias tóxicas que puedan afectar la germinación; además, que permita el desarrollo de las raíces sobre la superficie y no dentro.

- Sobre papel.** Las semillas son colocadas sobre una capa o dos capas de papel y se colocan en una caja petri, para posteriormente ser enviadas a la cámara de germinación.

- Entre Papel.** Las semillas son colocadas entre hojas de papel, que debe quedar enrollado y acomodarse en forma vertical o inclinado en la germinadora, pero nunca horizontal.



b) **ARENA.** Las semillas se colocan en una capa de arena de 2cm y se cubren con otra capa igual sin compactar. Ésta debe estar esterilizada y se utiliza en semillas difíciles de ensayar en papel, por problemas de enfermedad.



c) **SUELO.** En algunos casos es posible utilizar suelo, en lugar de los sustratos anteriores, cuando la semilla tiene exceso de tratamiento químico y presenta fitotoxicidad.

Es conveniente repetir la prueba en suelo para una mejor evaluación de la germinación o también se hace cuando es dudoso en papel.

Condiciones Estándar



HUMEDAD Y AIREACIÓN.

El sustrato debe tener suficiente humedad para suplir las necesidades de agua de la semilla. Nunca deberá estar tan húmedo, ya que forma una película de agua alrededor de la semilla lo cual evita la aireación.

TEMPERATURA. Las diferentes especies de semillas tienen requerimientos diferentes de temperatura para su germinación. Es recomendable utilizar cámaras o estufas germinadoras con control de temperatura. En ausencia de éstos, se puede utilizar un cuarto germinador en donde sea posible mantener una temperatura de 20 - 25 °C.

MÉTODOS PARA ROMPER LATENCIA

La latencia es una condición en donde una semilla viable no germina aun cuando se le proporcionen los medios adecuados de luz, temperatura, humedad y aireación. La latencia no es considerada como un estado permanente de la semilla, ya que pueden cambiar en ocasiones de latentes a no latentes y viceversa. En la propagación de plantas cuyas semillas presentan algún tipo de latencia, es necesario recurrir a una aplicación de un tratamiento que facilite la germinación, con el propósito de obtener producciones de plantas uniformes y reducir los periodos de germinación.

El principal problema que se tiene con las semillas latentes es el poder elegir el mejor tratamiento para estimular la germinación. Existen recomendaciones generales por tipo de semillas o por tipo de latencia. Lo más recomendable es desarrollar los requerimientos específicos para cada especie y en cada vivero.

Cuando en una prueba de germinación existan semillas frescas o latentes, se podrá recurrir a otra prueba después de un período de almacenamiento en un medio seco, pero también se pueden aplicar los métodos descritos en el anexo I. El uso de un tratamiento especial debe registrarse en los resultados de la prueba.

Tipo de Latencia	Factores que las Causan		Tratamiento para Romperla
Latencia exógena (es debida a las partes exteriores de la semilla, testa o pericarpio)	Mecánica.	Resistencia mecánica de la cubierta al crecimiento del embrión.	Dstrucción del pericarpio o cubierta de la semilla (rosáceas, tejocote, chabacano, ciruelo, durazno).
	Física.	Impermeabilidad de la semilla al agua.	Escarificación inmersión en agua caliente o en ácidos (leguminosas).
	Química.	Inhibidores en el pericarpio.	Remoción del pericarpio o lixiviado en agua caliente (pirul, palo dulce).
Latencia endógena (es debida a las estructuras internas de la semilla)	Morfológica.	Desarrollo incompleto del embrión.	Tratamiento con humedad y temperatura tibia (Atriplex, anona).
	Fisiológica.	Inhibición fisiológica del mecanismo de germinación.	Tratamiento en humedad y frío (estratificación) Rosáceas. (Pináceas).

Cálculo y Expresión de Resultados

El resultado de la prueba de germinación se obtiene con el promedio de las 4 repeticiones de 100 semillas y se expresa como porcentaje de plántulas normales. Únicamente de las plántulas normales de los dos conteos. El porcentaje de plántulas anormales y demás semillas se calcula igual, debiendo sumar todo 100.

Índices Compuestos para Semillas

En semillas algunas especies Forestales, la información en forma individual de la condición física y fisiológica de un lote de semillas no es suficiente para interpretar si es una semilla buena o de mala calidad. Así la pureza analítica y la capacidad de germinación pueden ser combinadas y expresadas en un valor conocido como Índice Compuesto o Valor Cultural y se tienen los siguientes índices compuestos:

$$\text{Semilla Pura Germinable} = \frac{\% \text{ SP} * \% \text{ Germinación}}{100}$$

$$\text{Semilla Pura Viable Pura Total} = \frac{\% \text{ SP} * \% \text{ Vt}}{100}$$

$$\text{Semilla Pura Viable en TZ} = \frac{\% \text{ SP} * \text{VTZ}}{100}$$

$$\text{Semilla Pura Emergente} = \frac{\% \text{ SP} * \% \text{ E}}{100}$$

Evaluación de Plántulas

Generalidades de Plántulas Normales

Se consideran plántulas normales aquellas que poseen sus estructuras esenciales para producir una plántula en sustrato bajo condiciones de agua, luz y temperatura.

Cuando la prueba de germinación haya sido en sustrato artificial, se consideran plántulas normales aquellas que presenten las siguientes estructuras esenciales:

- Sistema radicular bien desarrollado, incluyendo raíz primaria, excepto para aquellas plantas, por ejemplo gramíneas, que generalmente presentan raíces seminales, de las cuales deben estar presentes cuando menos dos de ellas.
 - Hipocótilo bien desarrollado e intacto y/o un epicotilo sin daño en el tejido conductor.
 - Un cotiledón en monocotiledóneas y dos cotiledones en dicotiledóneas.
- Aquellas que presenten los siguientes defectos ligeros, siempre y cuando el resto de sus estructuras revelen un desarrollo vigoroso y balanceado
 - Plántulas de todas las especies de semilla grande que presenten una raíz primaria dañada, pero con raíces adventicias y laterales lo suficientemente largas y vigorosas como para sostener la plántula en el suelo.
 - Plántulas con daño superficial o deterioro en el hipocótilo, epicotilo o cotiledones, siempre y cuando el daño no afecte los tejidos conductores.
 - Plántulas dicotiledóneas que presenten solamente un cotiledón sano.
 - Aquellas que estén invadidas por hongos y bacterias, siempre y cuando sea evidente que la fuente de infección no es la semilla, y que presenten las estructuras esenciales.

• Aquellas que presentan las estructuras esenciales bien desarrolladas e indicativas de su habilidad para producir plantas normales bajo condiciones favorables de suelo. Las plántulas normales pueden ser de 3 categorías:

1. Plántulas intactas: Pueden presentar una combinación de estructuras esenciales como: sistema de raíz bien desarrollado, sistema apical bien desarrollado; número específico de cotiledones; hojas primarias verdes y expandidas; brote terminal o ápice; coleóptilo rígido y bien desarrollado.
2. Plántulas con ligeros defectos: Muestran ligeros defectos en las estructuras anteriores o cierto retardo, sin que esto limite su crecimiento y desarrollo.
3. Plántulas con infección secundaria: Aquéllas dañadas por hongos bacterias, pero que es evidente que la semilla misma no es la fuente de la infección y se observa que las estructuras esenciales estaban presentes.

Generalidades de Plántulas Anormales

Las que no se pueden clasificar como normales por tener alguna deficiencia en desarrollo de sus estructuras esenciales, lo que les impide su desarrollo cuando crece en sustrato y en condiciones favorables de agua, luz y temperatura.

Las que presenten los siguientes defectos al germinar en su sustrato artificial:

- Plántulas dañadas, sin cotiledones con fisuras o lesiones que dañen el tejido conductor de hipocótilo, epicótilo o raíz; sin raíz en aquéllas especies donde esta estructura es esencial.
- Plántulas deformes, con desarrollo débil o desequilibrado de las estructuras primordiales: plúmulas retorcidas en espiral; plúmulas y epicótilos poco desarrollados; talluelos hinchados y raíces sin desarrollo; plúmulas hendidas o coleóptilos sin hojas verdes; plantas acuosas o bien que no presentan desarrollo después de haber salido de los cotiledones.

Plántulas con estructuras esenciales deterioradas por hongos o bacterias, excepto en el caso que se determine que dicha infección no proviene de la semilla.

Aquéllas que presentan una combinación de defectos en sus estructuras esenciales que limitan la continuación de su crecimiento y desarrollo. Estos defectos son bien marcados y varían según las especies.

Generalidades de las Semillas sin Germinar

Estas pueden ser semillas duras, incapaces de absorber humedad, presentes en muchas especies forestales del semidesierto. También pueden ser semillas frescas que resultan por latencia fisiológica, son capaces de absorber humedad pero su desarrollo es bloqueado.

Semillas Duras

Son aquéllas que permanecen duras al final de la prueba de germinación, ya que no absorben agua porque tienen cubierta impermeable.

Semillas Latentes

Se denominan así las semillas viables (diferentes de las semillas duras) que no germinan aun cuando estén bajo las condiciones que se especifican para dicha especie. La viabilidad de esta semilla se puede determinar con la prueba de tetrazolio y su germinación se puede acelerar mediante escarificación y aplicación de sustancias promotoras de la germinación. Se debe registrar el porcentaje de semillas latentes.

Semillas Muertas

Aquellas que no germinen y que no se les clasifique como latentes o duras, deberán ser consideradas como semillas muertas. Se debe registrar el porcentaje de este tipo de semillas. No muestran ningún signo de desarrollo y comúnmente están flácidas, decoloradas y con presencia de hongos.