



Por un desarrollo Agrario
Y Integral Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

Maestría en Sanidad Vegetal

Trabajo de graduación

Calidad de semilla certificada de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) en lotes de productores registrados, 2013-2014

Autor

Ing. Julio Cesar Luna Cuadra

Asesor

Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán

Managua, Nicaragua

Noviembre, 2018



Por un desarrollo Agrario
Y Integral Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMIA

Maestría en Sanidad Vegetal

Trabajo de graduación

Calidad de semilla certificada de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) en lotes de productores registrados, 2013-2014

Autor

Ing. Julio Cesar Luna Cuadra

Asesor

Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán

Tesis sometida a la consideración del Tribunal Examinador para optar al título de:

Maestro en Ciencias

Managua, Nicaragua

Noviembre, 2018

HOJA DE APROBACIÓN

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura de la facultad de agronomía de la sede central, Managua, como requisito parcial para optar al título profesional de:

Maestro en Ciencias en Sanidad Vegetal

Miembros del Tribunal Examinador:

Presidente

Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz

Secretario

Dr. Oscar José Gómez Gutiérrez

Vocal

Lic. MSc. Isaías Ezequiel Sánchez Gómez

ASESOR:

Ing. Agr. Yanet Gutiérrez Gaitán MSc.

SUSTENTANTE:

Ing. Julio Cesar Luna Cuadra

Lugar y fecha (día/ mes/ año) _____

ÍNDICE DE CONTENIDOS

SECCION	PAGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3.1. Ubicación del estudio	4
3.2. Primera etapa, análisis de calidad física y fisiológica de la semilla	4
3.2.1. Recepción de muestras	5
3.2.2. Homogenización de la muestra	5
3.2.3. Calidad física de la semilla	5
3.2.4. Calidad fisiológica de semillas de frijol	7
3.3. Segunda etapa, determinación de la calidad fitosanitaria	7
3.3.1. Tamaño de muestra	7
3.3.2. Análisis microbiológico de la semilla	8
3.3.3. Prueba de patogenicidad “in vitro” de semilla de frijol	9
3.3.4. Análisis de datos	10
IV. Resultados y Discusión	11
4.1. Primera etapa, análisis de calidad física y fisiológica	11
4.4.1. Análisis de las muestras en los semestres estudiados	11
4.4.2. Variedades analizadas en los semestres estudiados	12
4.4.3. Calidad física de la semilla, en los semestres estudiados	12
4.4.4. Análisis de los resultados de la calidad física en los períodos de estudios	26

4.4.5.	Calidad fisiológica de la semilla	27
4.4.6.	Análisis de los resultados de la calidad fisiológica en los períodos de estudios	32
4.2.	Segunda etapa, determinación de la calidad sanitaria	33
4.2.1.	Porcentaje de infección de semillas, II semestre 2013	33
4.2.2.	Porcentaje de infección de semillas, I semestre 2014	33
4.2.3.	Géneros de hongos y bacterias identificados	34
4.3.	Relación entre las variables de calidad física, fisiológica y fitosanitaria, 2013	38
4.3.1.	Correlación daño mecánico y daño por insectos, INTA Cárdenas, Segundo	38
4.3.2.	Correlación semilla manchada y daño mecánico, II semestre 2013 semestre de 2013	38
4.3.3.	Correlación semilla con daño mecánico y humedad, II semestre 2013	39
4.3.4.	Correlación semilla con daño por insecto y humedad, II semestre 2013	40
4.3.5.	Correlación semilla manchada y daño por insecto, II semestre 2013	40
V.	CONCLUSIONES	41
VI.	RECOMENDACIONES	42
VII.	LITERATURA CITADA	43

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida y la oportunidad de llegar hasta la publicación de este trabajo.

Esto, no habría sido posible sin la unión entre Imelda Lorena Cuadra G., y Julio Luna Garay, quienes, enamorados, concretaron su verdadero amor para dar vida a quien hoy, solo les honra con admiración y mucha entrega, por haberme brindado su apoyo, antes y durante mi vida estudiantil.

A mi hijo Julio David Luna Juárez, por ser parte de la motivación para seguir adelante y ser parte fundamental de mi vida.

A Gabriela Reyes Portocarrero por el apoyo brindado, durante los momentos compartidos, A Karina Mojica, a la familia Portocarrero, ¡Gracias!

Ing. Julio Cesar Luna Cuadra.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mi asesora, Ing. Yanet Gutiérrez, quien me guio por el camino, para la culminación de la presente tesis, sin sus orientaciones, no hubiese logrado este producto. ¡Eternamente..., gracias profesora, me llevo su ejemplo!

¡A los profesores del DPAF, en especial a los de MAESAVE, por sus enseñanzas y motivación!, al profesor Edgardo Jiménez, la profesora Isabel Herrera, su motivación fue, definitivamente importante.

Al Lic. Isaías Sánchez Gómez, Ing. Agr. Víctor Valdivia Vílchez, Ing. Markelyn Rodríguez, Ing. Danessa Ramírez por su colaboración en los ensayos de mi tesis.

Al Ing. Juan Carlos Morán, al PH. D Arnulfo Monzón, por sus valiosas ideas para el análisis de datos.

A mis compañeros de trabajo; la Ing. Isola Robleto, Lic. Juan Carlos Espinoza, Lic. Ana María Blanco, Ing. José Mauricio Jaen, Lic. Lorena Jarquín, Lic. Cristina Fuentes, por brindarme apoyo material y humano durante la ejecución de los estudios en el LNDFCS:

A todos mis compañeros de trabajo, desde los de menor jerarquía hasta los más altos funcionarios del IPSA, que gestionaron los recursos, materiales, tiempo y nos impulsaron y nos motivaron en la culminación de esta meta.

A Rosario Hernández, a Nelson Salgado, y Maribel Rivas, por su paciencia y apoyo incondicional, su amabilidad me queda como recuerdo y a todos los que no mencione, les pido disculpas, pero su contribución tanto directa como indirectamente fue valiosa, conocerles fue un placer, gracias por haber compartido cada momento con ustedes.

¡Gracias!

Ing. Julio Cesar Luna Cuadra.

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Número de muestras por categorías de semilla de frijol del segundo semestre 2013 y primer semestre 2014	11
2	Procedencia de las muestras de semilla de frijol certificada del segundo semestre 2013 y primer semestre 2014 Pureza física de la	11
3	Pureza física de la semilla de frijol certificada de las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo del II semestre y I semestre de 2013 y 2014	16
4	Número de muestras con otros defectos e imperfecciones , primer y segundo semestre de 2013 y 2014	17
5	Medias y error estándar de los análisis de calidad física de la semilla de frijol certificada en las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo, segundo semestre, 2013 y primer semestre 2014	27
6	Comparación de valores entre contenido de humedad, 13.0% y germinación, 80.0%, en semillas analizadas en el segundo semestre, 2013.	28
7	Media y error estándar del porcentaje de germinación, del II semestre y I semestre, 2014	32
8	Frecuencia de géneros de hongos identificados en muestras de semillas de INTA Cárdenas, II semestre, 2013 y I semestre de 2014	34
9	Frecuencia de géneros de bacterias identificados en muestras de semillas de INTA Cárdenas, II semestre, 2013	34
10	Correlación entre variables de calidad física, correspondientes al 2do semestre de 2013	40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Porcentaje de humedad, menor o igual a 13.0%, INTA Cárdenas categoría certificada, 2do semestre de 2013	13
2	Porcentaje de humedad, mayor al 13.0%, INTA Cárdenas categoría certificada, 2do semestre de 2013	13
3	Porcentaje de humedad, , INTA Rojo categoría certificada, II semestre de 2013	14
4	Porcentaje de muestras analizadas en relación al parámetro de humedad, II semestre, 2013	14
5	Porcentaje de humedad, en muestras de frijol, INTA Cárdenas ingresadas durante el I semestre de 2014	15
6	Porcentaje de humedad, en muestras de frijol, INTA Rojo ingresadas durante el I semestre de 2014	15
7	Número de semilla manchada/ kg, variedad INTA Cárdenas, II Semestre 2013	18
8	Número de semilla manchada/ kg, variedad INTA Rojo, II Semestre 2013	18
9	Número de semilla manchada/ kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014	19
10	Número de semilla manchada/ kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014	19
11	Número de semilla con daño mecánico/ kg., INTA Cárdenas, II semestre de 2013	21
12	Número de semilla con daño mecánico/ kg, INTA Rojo, II semestre de 2013	21
13	Número semilla daño mecánico/kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014	22
14	Numero semilla daño mecánico/kg, INTA Rojo, I semestre de 2014	22
15	Número de semilla con daño por insecto/ kg, variedad INTA Cárdenas, II semestre de 2013	24
16	Número de semilla con daño por insecto/ kg, variedad INTA Rojo, II semestre de 2013	25

FIGURA		PAGINA
17	Numero semilla con daño por insecto/Kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014	25
18	Numero semilla con daño por insecto/Kg, INTA Rojo, I semestre de 2014	26
19	Porcentaje de germinación, variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013	29
20	Porcentaje de germinación , variedad INTA Rojo, II semestre 2013	29
21	Porcentaje de germinación de variedad I. Cárdenas , I semestre 2014	30
22	Porcentaje de germinación de la variedad I. Rojo, I semestre 2014	30
23	Número de muestras con porcentaje de humedad superior al óptimo 13% y porcentaje de germinación óptimo, 80%, II semestre, 2013..	31
24	Número de muestras con porcentaje de humedad superior al óptimo 13% y porcentaje de germinación óptimo, 80%, I semestre, 2014	32
25	Porcentaje de infección, variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013	33
26	Porcentaje de infección , variedad INTA Cárdenas, I semestre 2014	34

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PAGINA
1	Definiciones	48
2	Fórmulas para el cálculo del tamaño de la muestra a partir de poblaciones finitas	50
3	Diagrama del flujo de las actividades realizadas durante el desarrollo del estudio.	51
4	Remisión de muestras de semilla para análisis	52
5	Hoja de remisión de muestras al LNDFCS, FT 5.17.0.5	53
6	Homogeneizadores de semillas, utilizados en el LNDFCS.	54
7	Medidor de humedad electrónico, Dickey John	54
8	Plántulas de frijol en invernadero del LNDFCS de IPSA.	55
9	Fórmulas para el cálculo del tamaño de la muestra a partir de poblaciones finitas...	55
10	Numero de semillas por kilogramo	55
11	Invernadero, Mesas de concreto, de 106 por 138 cm., para ensayos de germinación entre arena	56
12	Estructuras de una plántula de frijol, con germinación epigea	56
13	Plántulas de frijol en invernadero del LNDFCS de IPSA	57
14	Diagrama de diluciones en serie (Lehmann, 1987; Schröder, 1980).	57
15	Esquema de pruebas bioquímicas para identificación de bacterias fitopatógenas	57
16	Medios de cultivos utilizados para identificar los microorganismos	58
17	Corte longitudinal de la semilla de frijol, el cotiledón que contenía el eje embrionario, se sembró en medio YDC	60
18	Registro de resultados de calidad de semillas.	61
19	Resultado de análisis de Calidad de Semillas, FT 5.20.0.2.	62

20	Parámetros de campo y de laboratorio para las diferentes categorías de frijol, según MINECO (NTON 11 028 - 10/ RTCA 65.05.53:10)	63
21	Correlaciones entre variables de calidad física, II semestre 2013	64

RESUMEN

Se determinó la calidad de semilla certificada de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) en lotes de productores registrados, en las variedades, INTA Cárdenas e INTA Rojo. En el período del segundo semestre, 2013 y primer semestre, 2014. Se analizó la calidad física, fisiológica y sanidad de la semilla. Los análisis se realizaron según protocolos por la Asociación Internacional de Análisis de Semillas y el Reglamento Técnico Centroamericano. Los datos se analizaron con estadísticas descriptivas y análisis de correlación para variables de calidad física. Todas las muestras en ambos semestres, cumplieron con el estándar de pureza física, 98.0%. Las medias y error estándar, para el contenido de humedad resultaron, para ambos períodos $IC_{95.0\%}=14.41\pm 1.24$ y $IC_{95.0\%}=10.99\pm 0.09$; este valor debe de ser menor o igual del 13 %. La calidad fisiológica, germinación con $IC_{95.0\%}=90.29 \pm 1.15$ y 91.51 ± 2.89 , superaron el estándar mínimo del 80.0%, para ambas variedades. Los porcentajes de infección en los dos períodos fluctuaron entre uno y 18.0% para hongos y de uno a 13.0% para bacterias; en el primer semestre 2014 entre 1.0 y 9.0%; para hongos y 2.0 y 4.0% para bacterias. Las variables de humedad se correlacionaron con el daño por insecto e infección por hongos saprofitos. Los géneros de hongos identificados: *Septonema*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Pythium* y *Colletotrichum lindemuthianum*, y las bacterias *Pseudomonas* y *Bacillus sp.*

Palabras claves: *Pseudomonas*, germinación, contenido de humedad

ABSTRACT

The quality of certified bean seed (*Phaseolus vulgaris* L) was determined in lots of registered producers, in the varieties, INTA Cárdenas and INTA Rojo. In the period of the second semester, 2013 and first semester, 2014. The physical, physiological quality and seed health were analyzed. The analyzes were performed according to protocols by the International Seed Analysis Association and the Central American Technical Regulations. Data were analyzed with descriptive statistics and correlation analysis for physical quality variables. All samples in both semesters met the physical purity standard, 98.0%. The means and standard error, for the moisture content were, for both periods $IC95.0\% = 14.41 \pm 1.24$ and $IC95.0\% = 10.99 \pm 0.09$; This value must be less than or equal to 13%. The physiological quality, germination with 95% CI = 90.29 ± 1.15 and 91.51 ± 2.89 , exceeded the minimum standard of 80.0%, for both varieties. The percentages of infection in the two periods ranged from one to 18.0% for fungi and from one to 13.0% for bacteria; in the first half of 2014 between 1.0 and 9.0%; for fungi and 2.0 and 4.0% for bacteria. Moisture variables were correlated with insect damage and saprophytic fungal infection. The identified fungal genera: *Septonema*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Pythium* and *Colletotrichum lindemuthianum*, and the bacteria *Pseudomonas* and *Bacillus sp.*

Keywords: *Pseudomonas*, germination, moisture content

I. INTRODUCCIÓN

En el grupo de las leguminosas comestibles, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las más importantes debido a su distribución en los cinco continentes, por ser complemento nutricional indispensable en la dieta alimenticia. El frijol ha sido un elemento tradicionalmente importante en América latina y en general en una gran cantidad de países en vías de desarrollo en los cuales se cultiva (IICA, SICTA, COSUDE, 2009).

La producción de granos tuvo un descenso de 14% en el ciclo 2015-2016 con respecto al ciclo 2014-2015, cuando anduvo por los 18.4 millones de quintales, descenso provocado por el bajo régimen de lluvias, que afectó principalmente al Corredor Seco del país (Bejarano, 2016).

Durante el ciclo 2014/2015 el frijol incrementó el área cosechada a 352.1 miles de manzanas (10.5%), pero redujo la producción a 3,510.1 miles de quintales (14.0%) (Banco Central de Nicaragua, 2015).

“El consumo per cápita en Nicaragua es de 26.1 kilogramos por año y es el más alto de Centroamérica, pero varía mucho año con año, dependiendo de la producción, las importaciones, exportaciones, precio y existencias (IICA et al, 2009)”.

La calidad de la semilla de frijol no está determinada por el aspecto físico, tamaño uniforme, color similar y sin daños ni defectos. La calidad se logra con una oportuna fiscalización de su producción y cosecha de campo, un apropiado beneficio y almacenamiento. La mayoría de los genotipos que se utilizan como semilla, son producidos bajo condiciones de temporal, por lo que presenta mediana calidad debido a que no se controlan los problemas ocasionados por plagas o enfermedades durante el desarrollo del cultivo, debido a esto en ocasiones algunas de estas enfermedades tales como tizón de halo, tizón común, antracnosis, se pueden transmitir por semilla ocasionando pérdidas de rendimiento (Cid, Reveles y Velásquez, citado por Araya y Hernández 2006)

El Instituto de Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), se encarga de investigar, producir y proveer el material genético idóneo a los productores de semilla, no sin antes cumplir con la normativa de producción y comercialización de semillas (aprobada por instituciones del sector), que es regulada y fiscalizada por el departamento de certificación de semillas del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA) para garantizar que el material cumpla con los estándares de calidad de semilla de frijol de las diferentes categorías.

Existen varias razones que limitan la producción de semillas, existencia de un mercado de semillas con poco desarrollo e información, limitado desarrollo empresarial para planificar la producción de semilla orientada a las demandas reales y potenciales locales, nacionales y regionales, limitada capacidad de inversión de infraestructura y activos fijos de parte de productores y cooperativas semilleras, no existencia de capacitaciones para productores en producción y calidad de semilla, falta la implementación de servicios de crédito que incentive la producción de semilla, limitadas capacidades de acopio, retención, almacenamiento y procesamiento (MAGFOR, 2009).

En Nicaragua, el uso de semilla certificada no es generalizado, son muy pocos los productores que la utilizan, y muchos no están conscientes de sus beneficios. Cuando el precio de la semilla es alto, lo retribuye, los atributos genéticos, fisiológicos y sanitarios que sumado al buen manejo del cultivo redundará en altos rendimientos. Existe limitada información sobre la calidad de semilla basados en las normas y estándares establecidos para semilla certificada de frijol, en las variedades mejoradas y criollas.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Generar información sobre la calidad de semilla certificada de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) de acuerdo a normas establecidas, en lotes de productores registrados, 2013-2014, Nicaragua

Objetivos específicos

Determinar la calidad física y la calidad fisiológica, correlación entre variables de calidad física de la semilla de frijol certificada en lotes del segundo semestre de 2013 y primer semestre de 2014.

Determinar la frecuencia de microorganismos en semilla de frijol certificada en lotes de productores registrados en segundo semestre 2013 y primer semestre 2014.

Identificar los microorganismos transmitidos en semilla de frijol certificada en lotes de productores registrados en segundo semestre 2013 y primer semestre 2014.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del estudio

El estudio se realizó en dos etapas, la primera etapa, se llevó a cabo en la sección de calidad de semillas del Laboratorio Nacional de Diagnostico Fitosanitario y Calidad de Semillas (LNDFCS), ubicado en la comunidad de San José de la Cañada, km. 12.7 de la carretera sur, 1.5 km al Noroeste, en el que se realizó la determinación de la calidad física (pureza física y humedad) y calidad fisiológica (germinación). En la segunda etapa, se llevaron a cabo ensayos de calidad fitosanitaria (identificación de hongos y bacterias) en los laboratorios Departamento de Protección Agrícola y Forestal (DPAF) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) ubicados en el km 12 carretera Panamericana.

3.2. Primera etapa, análisis de calidad física y fisiológica de la semilla

En la primera etapa del estudio se analizó la calidad física, y fisiológica de la semilla de frijol en muestras recepcionadas en los laboratorios del LNDFCS en el período comprendido del segundo semestre de 2013 y el primer semestre de 2014. Los análisis se realizaron según protocolos establecidos por la Asociación Internacional de Análisis de Semillas, ISTA (2013) y el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA), requisitos para la certificación de frijol, muestreo y análisis de calidad (MINECO, CONACYT, MIFIC, SIC, MEIC, 2010).

Las muestras procedían de diferentes regiones del país, de lotes de productores inscritos en el sistema nacional de semillas¹, remitidas por inspectores del departamento de semillas.

¹ Sistema Nacional de Semillas: Es el conjunto de componentes que integran las diferentes fases del proceso de producción y comercialización de semillas y plantas de viveros para siembra. (Ley de producción y comercio 1998, p.3).

3.2.1.Recepción de muestras

Cada muestra se recepcionó con su hoja de protocolo de remisión de muestras de semilla para análisis (Anexo 1), sellado y firmado por el inspector de la Dirección General de Semillas y el formulario de remisión de muestras al LNDFCS (Anexo 2).

Se recibieron muestras de las categorías, genética, básica, certificada, registrada y semilla autorizada o apta, esta última categoría de semilla se produce bajo el control de la dirección de semillas y proviene de la semilla certificada o se toma de la semilla destinada para el consumo y siembra.

3.2.2.Homogenización de la muestra

Según, protocolo descrito por ISTA (2013), la homogenización se realizó pasando la muestra en tres ocasiones por un homogeneizador Seedburo, para obtener una muestra uniforme en todos sus componentes (Anexo 3).

3.2.3.Calidad física de la semilla

La calidad física constó de tres análisis como son; determinación del contenido de humedad, pureza física (porcentaje de semilla pura y materia inerte, numero de semillas otras especies, numero de semillas de malezas y de otras especies cultivadas) y semilla con otros defectos e imperfecciones (porcentaje y numero de semilla manchada, daño mecánico y daño por insecto).

Determinación del contenido de humedad (%)

Para determinar el porcentaje de humedad de la semilla, se utilizó el método indirecto, con el medidor de humedad Dickey John, este valor se obtuvo promediando tres lecturas con un peso de 220.0 g de granos de frijol (Anexo 4).

Determinación de la pureza física (%)

Según las normas establecidas por el ISTA (2013), para el análisis de calidad física, se utilizó una muestra de trabajo de 700.0 g, se determinaron los porcentajes de semilla pura, materia inerte y semillas de otras especies (semillas de maleza y de otros cultivos), estos elementos se determinaron mediante el peso, dividiendo del peso de la muestra de trabajo (700.0 g), multiplicándolo por 100 % (Anexo 5).

Cálculo del número y porcentaje de semilla con otros defectos e imperfecciones (%)

En este análisis se determinó el número y los porcentajes de semilla manchada, daño mecánico y daño por insecto. Primero, se separaron, contaron y se pesaron las semillas de los diferentes componentes para el cálculo del porcentaje, con base a la muestra de trabajo de 700.0 g (Anexo 6). La expresión final de los resultados de cada subcomponente se expresó en unidades por kilogramo (Anexo 7) (ISTA, 2013).

Cálculo de semillas de maleza y de otras especies cultivadas

Este análisis se realizó al momento de realizar la separación de los componentes de pureza física (otros defectos e imperfecciones), acá se seleccionaron semillas de malezas nocivas y de otras especies de plantas cultivadas, presentes de la muestra de trabajo (700.0 g), el peso de estas semillas se restó del peso de semilla pura y se le adiciono al peso de materia inerte.

El peso de semillas de otras especies cultivadas y de semillas de malezas, se resta del peso de semilla pura y se suma al peso de materia inerte.

Para el porcentaje de semilla pura, se establecieron rangos de porcentaje, de acuerdo a los resultados encontrados, de 0.0 a 100.0%.

3.2.4. Calidad fisiológica de semillas de frijol

En la calidad fisiológica, se determinó el porcentaje de germinación. Los ensayos se establecieron en invernadero. Para cada muestra se sembraron 400 semillas en sustrato arena estéril, las evaluaciones se realizaron en dos momentos, a los cinco días, sin extracción de las plántulas y a los nueve días, en la que se extrajeron las plántulas para verificar su estado (Anexo 8) (ISTA ,2013).

Determinación de porcentaje de germinación de semillas de frijol

Mediante la operación de regla de tres simple, se calculó el porcentaje de germinación, separando las plántulas normales, de las anormales y semillas muertas, entre el total de semillas (400), por 100%. De la misma manera se determinó el porcentaje de plántulas anormales y semilla muerta (ISTA ,2013).

$$\% \text{ PN} = \frac{\text{Número de plántulas Normales}}{\text{Número de semillas sembradas (400 semillas)}} * 100\%$$

$$\% \text{ PA} = \frac{\text{Número de plántulas Anormales}}{\text{Número de semillas sembradas (400 semillas)}} * 100\%$$

$$\% \text{ SM} = \frac{\text{Numero de semilla Muerta}}{\text{Número de semillas sembradas (400 semillas)}} * 100\%$$

3.3. Segunda etapa, determinación de la calidad fitosanitaria

El análisis fitosanitario, se realizó en los laboratorios DPAF de la UNA; correspondió a muestras de los períodos de segundo semestre de 2013 y primer semestre de 2014.

3.3.1. Tamaño de muestra

Se seleccionó la categoría certificada de semillas de frijol de las variedades INTA Cárdenas según fórmula de poblaciones finitas por Fernández (1996); para una población total de 103 muestras al 90.0 % de confianza, 10.0 % de error, determinándose 41 muestras; de las cuales 37 muestras fueron procesadas, el resto de muestras se descartaron por estar infestadas por insectos (Anexo 9).

3.3.2. Análisis microbiológico de la semilla

Para análisis microbiológico en semillas de frijol, el número de semillas para la detección de hongos y bacterias fue de 400 semillas para cada muestra; según reglas ISTA (2013).

Análisis de hongos y bacterias en semillas de frijol

Para la detección de microorganismo en semilla se utilizó la técnica de inducción a la esporulación; para el análisis de hongos y bacterias, las semillas fueron desinfectadas, sumergidas en alcohol histológico al 98.0% por dos minutos, estas se escurrieron y se lavaron con agua destilada estéril e inmediatamente; se realizó un segundo enjuague, se escurrió y se envolvieron en papel toalla, después se envolvieron en papel filtro estéril y se dejaron secando por 24 horas. Las semillas se incubaron en cámara húmeda, con papel filtro esterilizado, debidamente rotulado. Para determinar el porcentaje de infección por bacterias se examinó cada semilla a las 48 horas para detectar exudados y a los ocho días para los hongos.

Detección de microorganismos internos de la semilla

Para este análisis, se sembraron 40 semillas en 10 platos de 150 mm de diámetro con medio Yeast Dextrose Carbonate (Levadura – Dextrosa – Carbonato de calcio y agar), las semillas fueron diseccionadas longitudinalmente, procurando sembrar la parte de los cotiledones que contenía el eje embrionario, posteriormente fueron desinfectadas de la misma manera, descrita en el párrafo anterior (Anexo 10),

Luego de 48 horas, con ayuda de estereoscopio se examinaron las semillas infectadas, luego se realizaron pruebas bioquímicas y se hicieron crecer colonias puras en medios específicos Levadura – Dextrosa – Carbonato de calcio y agar (YDC), Nutriente agar de levadura (NBY) y Cloruro de tetrazolium (TZC), para su respectiva identificación.

Conservación de cepas bacterianas de microorganismos internos de la semilla

Las cepas bacterianas con mayor porcentaje de infección se conservaron en agar agua, hasta que se utilizaron en las pruebas de patogenicidad “in vitro”, en semillas de frijol de la variedad INTA Cárdenas.

Identificación de bacterias

La identificación de bacterias se realizó examinando cada semilla, después de 48 horas; se determinó el porcentaje de granos infectados con colonias bacterianas. Las semillas que se observaron con exudado bacteriano se procedieron a sembrar en medio de cultivo de agar nutritivo (AN) para la obtención de cultivo puro y observación de característica de las colonias, después de 24 horas se purifico para su posterior identificaron a través de diferentes pruebas bioquímicas: Reacción Gram [Hidróxido de Potasio (KOH)], Tinción GRAM), Oxidasa, Catalasa (H₂O₂).

Identificación de hongos

Para la identificación de los hongos, se incubaron las semillas de frijol, hasta un máximo de ocho días, para la observación de cada semilla de crecimiento de estructuras fructíferas, se realizaron montaje y se observaron las mismas al microscopio en 40 X; usando clave taxonómica de Barnett y Hunter (1998).

3.3.3. Prueba de patogenicidad “in vitro” de semilla de frijol

Se seleccionaron lotes de semilla sana, proveniente de lotes del primer semestre de 2014, de las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo. Para esta prueba se utilizaron un total de 30 semillas por variedad. Las semillas fueron desinfectadas por 4 minutos en alcohol histológico al 95%, enjuagadas en dos ocasiones con agua destilada estéril, secadas con papel filtro estéril por 24 horas.

3.3.4. Análisis de datos

Los datos se analizaron con estadísticas descriptivas para la calidad física, fisiológica y fitosanitaria: y análisis estadístico de correlación para variables de calidad física que se correlaciona con la calidad fisiológica fitosanitaria: utilizando los programas SAS, INFOSTAT y Excel 2013.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Primera etapa, análisis de calidad física y fisiológica

Las muestras fueron colectadas por inspectores del departamento de semilla, procedentes de lotes del sistema nacional de producción de semillas, tales como; productores, empresas dedicadas a la producción de semilla, instituciones gubernamentales como el Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA).

4.4.1. Análisis de las muestras en los semestres estudiados

Durante los dos períodos en estudio ingresaron al laboratorio de calidad de semillas 187 muestras de semilla de frijol de diferentes categorías, 98 muestras correspondían al segundo semestre 2013 y 89 al primer semestre 2014 (Cuadro 1). La categoría de semilla certificada de frijol fueron las analizadas en este estudio, porque representó la mayor proporción de las muestras recibidas y la categoría más utilizada por los productores para la siembra. Estas procedían principalmente de las regiones III y VI de Nicaragua (Cuadros 2).

Cuadro 1. Número de muestras por categorías de semilla de frijol del segundo semestre 2013 y primer semestre 2014

Período	Categorías de semillas				
	Genética	Básica	Certificada	Registrada	Apta
Segundo semestre 2013	7	13	63	15	0
Primer semestre 2014	0	18	40	15	16
Total	7	31	103	30	16

Cuadro 2. Procedencia de las muestras de semilla de frijol certificada del segundo semestre 2013 y primer semestre 2014

Procedencia	Número de muestras
Tipitapa, Managua, R III	85
Sébaco, Matagalpa, Matagalpa R VI	59
Diriomo, Diriamba, Carazo, Granada, R IV	8
Quilalí, Madriz, Somoto, Estelí, El Jícara Región I	16
San Lucas, RACS	19
Total	187

4.4.2. Variedades analizadas en los semestres estudiados

Muestras de lotes del II semestre de 2013

En el segundo semestre de 2013 se analizaron 63 muestras de la categoría certificada, de las cuales: 58 solicitaron análisis de humedad, 54 muestras pertenecían a la variedad INTA Cárdenas y cuatro a la variedad INTA Rojo.

Muestras de lotes del I semestre de 2014

En el primer semestre del 2014, se analizaron 35 muestras de la variedad INTA Cárdenas y 5 de la variedad INTA Rojo de un total de 40 muestras que fueron analizadas.

4.4.3. Calidad física de la semilla, en los semestres estudiados

Contenido de humedad semillas de frijol, II semestre de 2013

En el análisis del contenido de humedad, la variedad INTA Cárdenas, 24 muestras cumplieron con el porcentaje óptimo de humedad, 34 muestras no cumplieron, estos valores correspondieron al 41.0% y 59.0% (Figura 1 y 2). De la variedad INTA Rojo, tres de cuatro muestras cumplieron con el porcentaje óptimo para semilla de frijol. El porcentaje óptimo de humedad para semilla certificada de frijol, debe ser igual o menor al 13.0% (MINECO et al, 2010). De las muestras que fueron analizadas en este período el 38% resultaron con el contenido de humedad que establece la norma (Figuras 3 y 4).

Contenido de humedad, semilla de frijol, I semestre de 2014

Todas las muestras de semillas analizadas, para la variedad INTA Cárdenas e INTA Rojo, cumplieron con el requisito de humedad establecido por la norma de 35 y cinco muestras que fueron analizadas respectivamente para cada variedad. (Figuras 5 y 6). (MINECO et al, 2010).

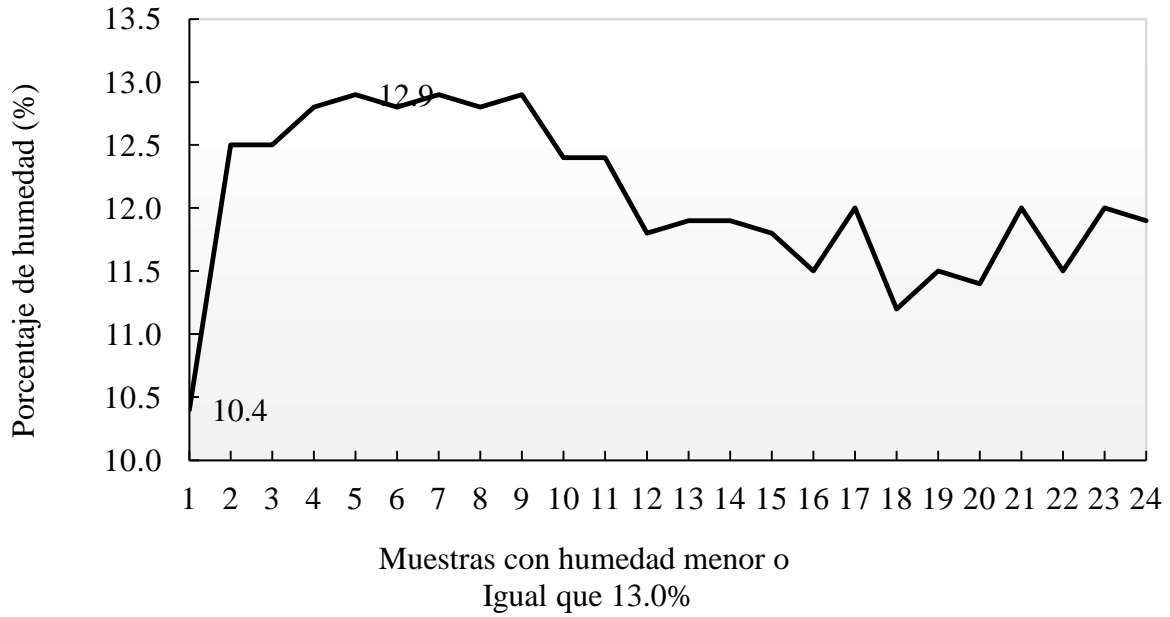


Figura 1. Porcentaje de humedad, menor o igual a 13.0%, INTA Cárdenas categoría certificada, 2do semestre de 2013

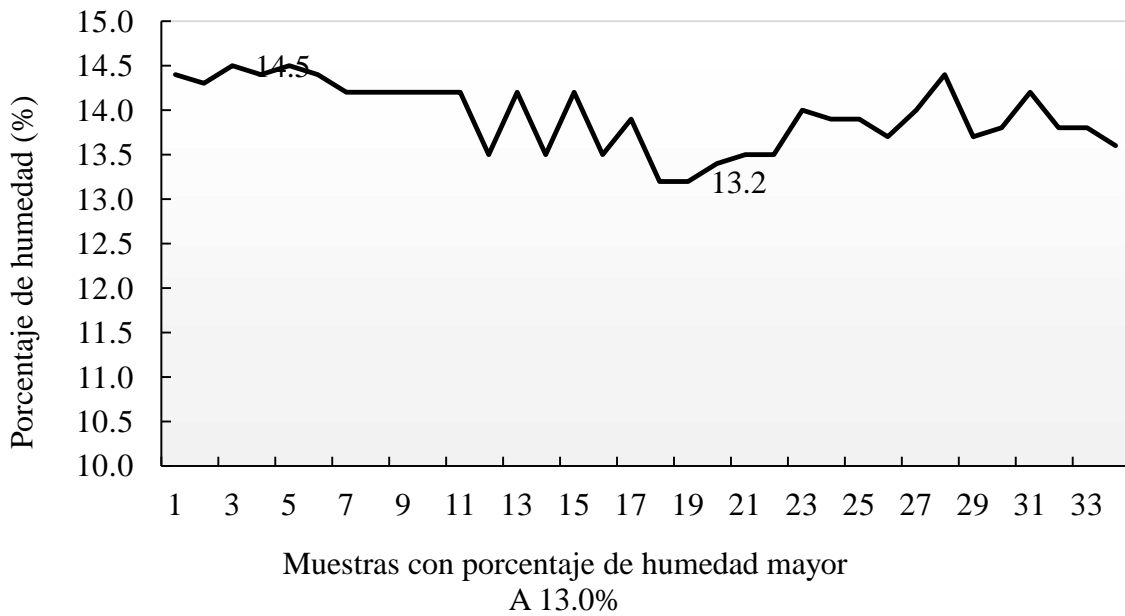


Figura 2. Porcentaje de humedad, mayor al 13.0% INTA Cárdenas categoría certificada 2do semestre de 2013

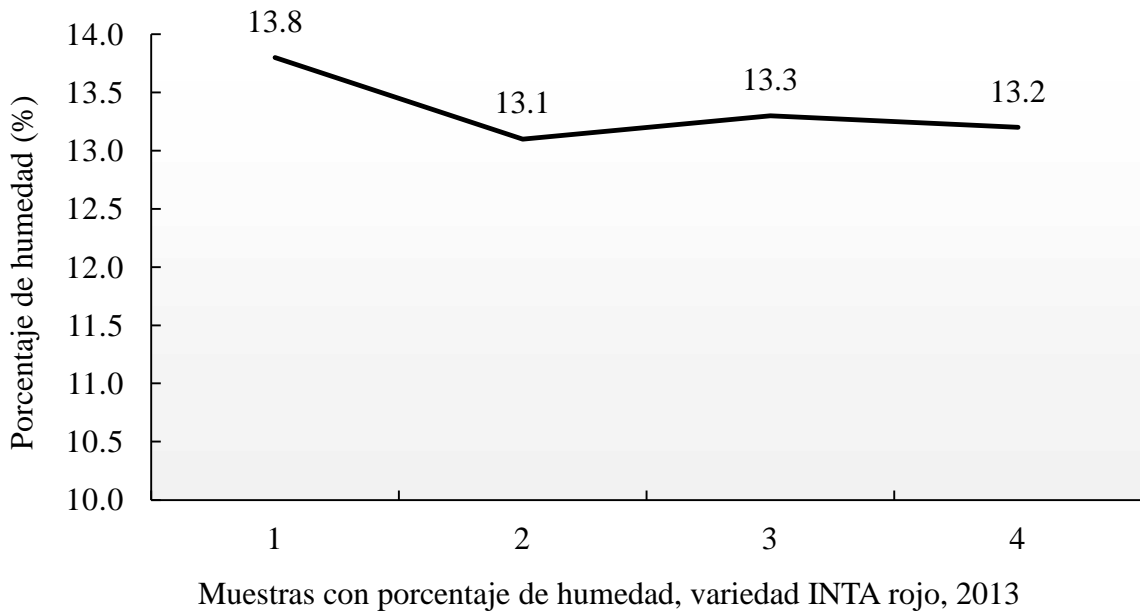


Figura 3. Porcentaje de humedad, , INTA Rojo categoría certificada, II semestre de 2013

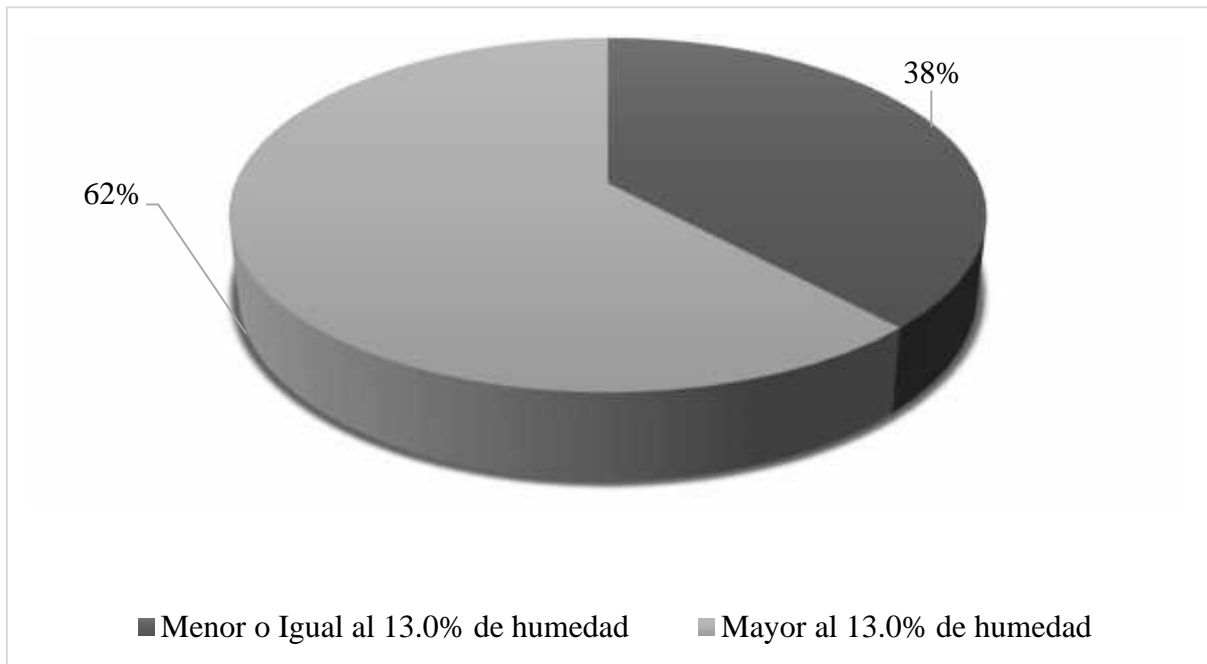


Figura 4. Porcentaje de muestras analizadas en relación al parámetro de humedad, II semestre, 2013

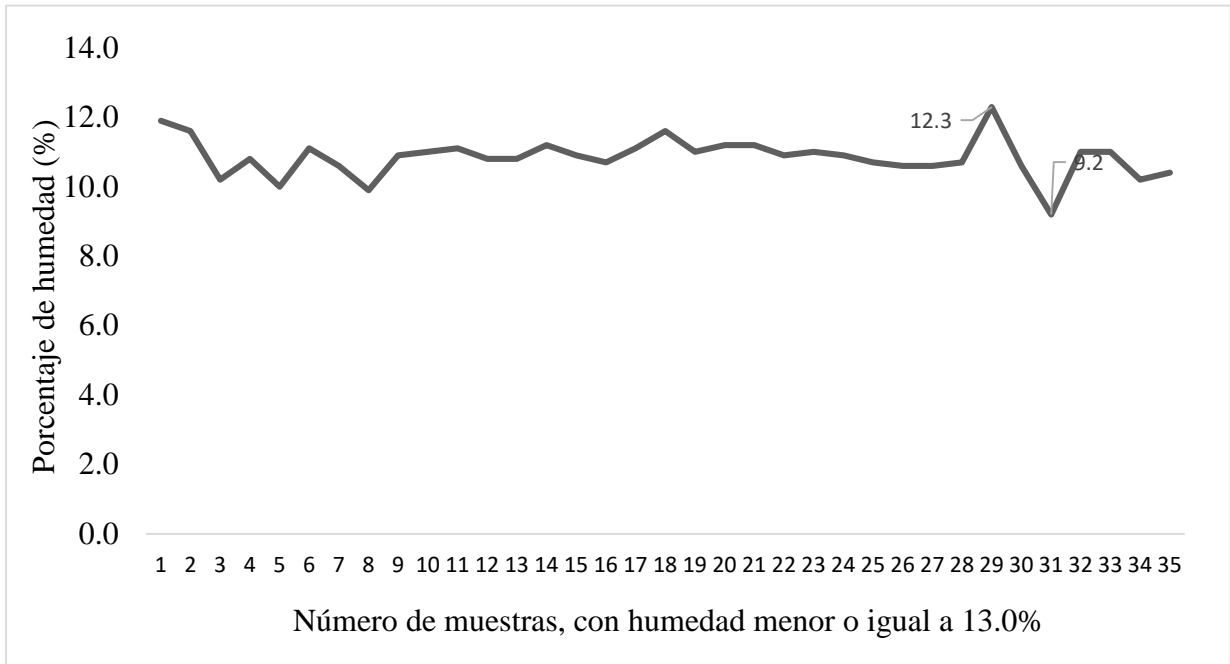


Figura 5. Porcentaje de humedad, en muestras de frijol, INTA Cárdenas ingresadas durante el I semestre de 2014

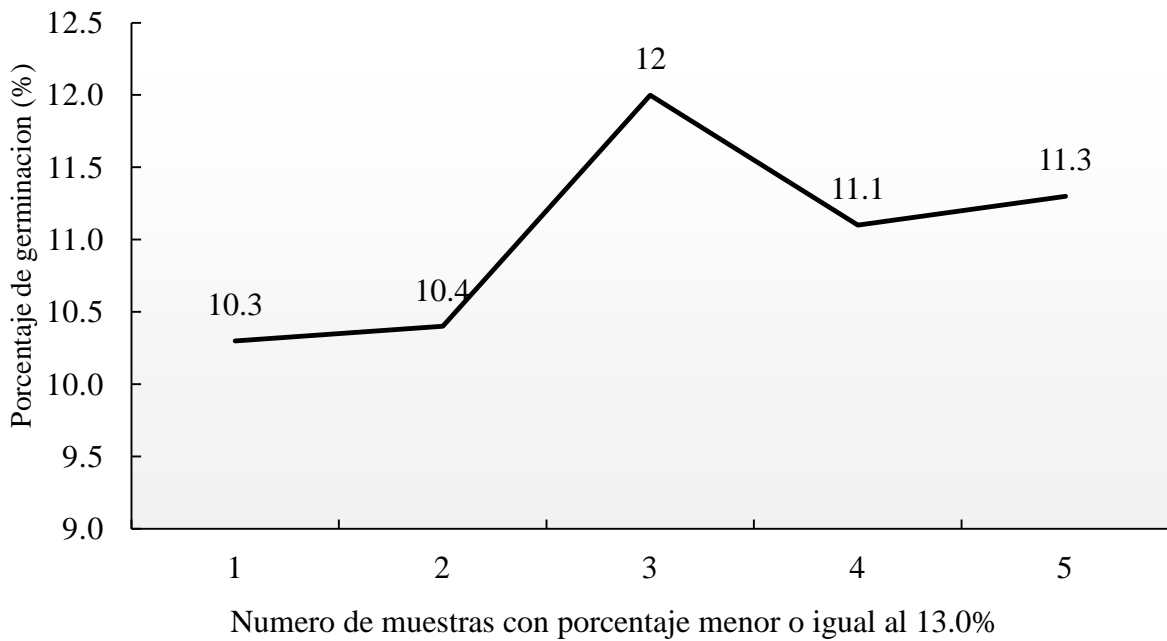


Figura 6. Porcentaje de humedad, en muestras de frijol, INTA Rojo ingresadas durante el I semestre de 2014

El contenido de humedad, es un factor importante en la calidad de la semilla., Mederos y Reynaldo, (2007); los granos pueden ser almacenados a una temperatura de 25 °C y un 15.4% de humedad, sin que sean detectados problemas de endurecimiento.

Existen además otros factores que influyen en el contenido de humedad en la semilla, como son las condiciones de almacenamiento de la semilla que afectan su calidad. Estudio realizado sobre la calidad en semillas de soya,

Delouche, (1973), determinó, que las principales causas de problemas durante el almacenamiento se deben a la utilización de semillas de baja calidad, semillas con un alto contenido de humedad (H); períodos de almacenamiento muy largos, y almacenes húmedos, calientes, poco ventilados y con condiciones sanitarias inadecuadas.

“Bustamante (1982), considera también que el contenido de humedad es también importante, ya que es un factor que influye en el manejo y conservación de las semillas una vez obtenidas”.

Pureza física de semilla certificada de frijol, en semestres estudiados

Los porcentajes de pureza física de la semilla en las variedades analizadas resultaron en un rango de 99.1 a 99.9% de semilla pura y de 100.0% de pureza (Cuadro 3).

Cuadro 3. Pureza física de la semilla de frijol certificada de las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo del II semestre y I semestre de 2013 y 2014

Período	Rango de pureza de la semilla (%)			
	Número de muestras analizadas			
	99.1 y 99.9		100.0	
	INTA Cárdenas	INTA Rojo	INTA Cárdenas	INTA Rojo
II Semestre 2013	7	0	59	4
I Semestre 2014	3	4	26	0
Total de muestras analizadas	10	4	75	4

De acuerdo MINECO et al, (2011) los niveles mínimos son de 98.0% para semilla pura y hasta un máximo de 2.0 % para materia inerte. Con relación al número de semillas de otras especies cultivadas, y especies de maleza, no se encontraron semillas; los resultados de los análisis de la calidad física, cumplieron con los parámetros establecidos por la norma.

Número de semilla con otros defectos e imperfecciones, II semestre 2013

Dentro de esta clasificación se encontraron semilla manchada, semilla con daño mecánico y semilla con daño por insectos, la cantidad de muestras por cada analito se detalla a continuación (Cuadro 4).

Cuadro 4. Número de muestras con otros defectos e imperfecciones , primer y segundo semestre de 2013 y 2014

Período	Variiedad	Semilla Manchada	Semilla con daño Mecánico	Semilla con daño por insecto
Segundo Semestre 2013	INTA Cárdenas	48	46	51
	INTA Rojo	4	4	2
Primer Semestre 2014	INTA Cárdenas	30	30	26
	INTA Rojo	5	5	5

Semilla manchada, II semestre 2013

En 48 de 58 muestras analizadas de la variedad INTA Cárdenas, se encontraron semillas manchadas, equivalente al 82.7%; se encontraron desde 3 hasta un máximo 40 semillas manchadas/ kg. (Figura 7).

En la variedad INTA Rojo, las 4 muestras, que fueron analizadas se encontraron semillas manchadas desde 9 hasta un máximo 54 semillas/ kg (Figura 8).

Semilla manchada, II semestre 2014

Para la variedad INTA Cárdenas, se encontraron semillas manchadas en 30 de 35 muestras, equivalente al 85.7% y desde una hasta un máximo 37 semillas manchadas/ kg., (Figura 9).

En cinco muestras de la variedad INTA Rojo, se encontraron desde seis hasta un máximo 117 semillas manchadas/ kg. (Figura 10).

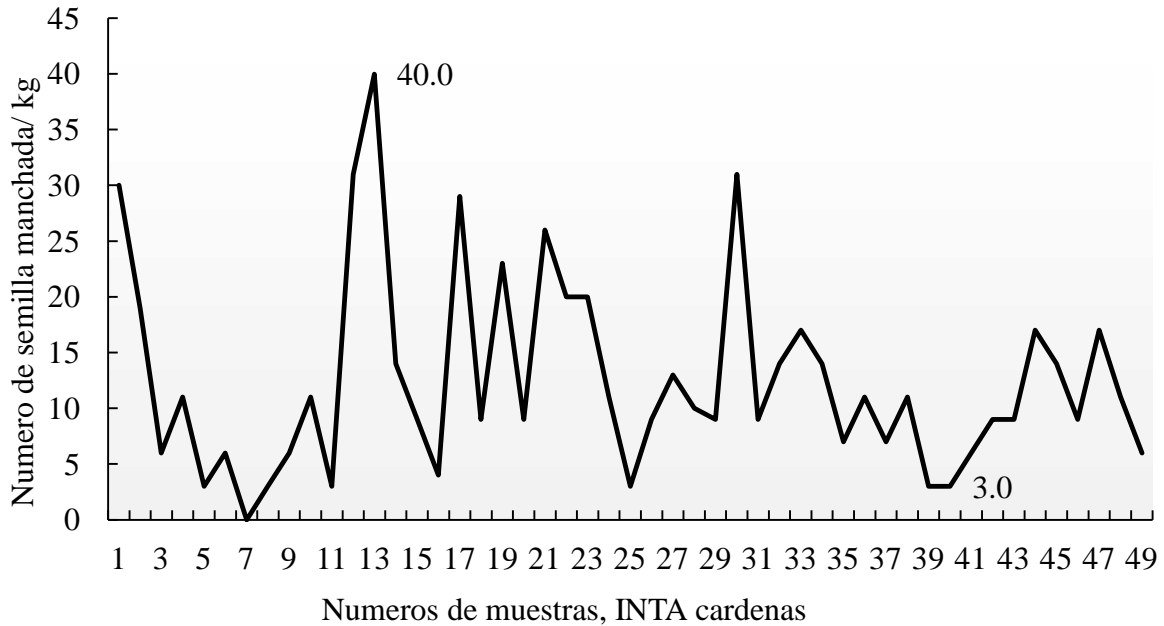


Figura 7. Número de semilla manchada/ kg, variedad INTA Cárdenas, II Semestre 2013

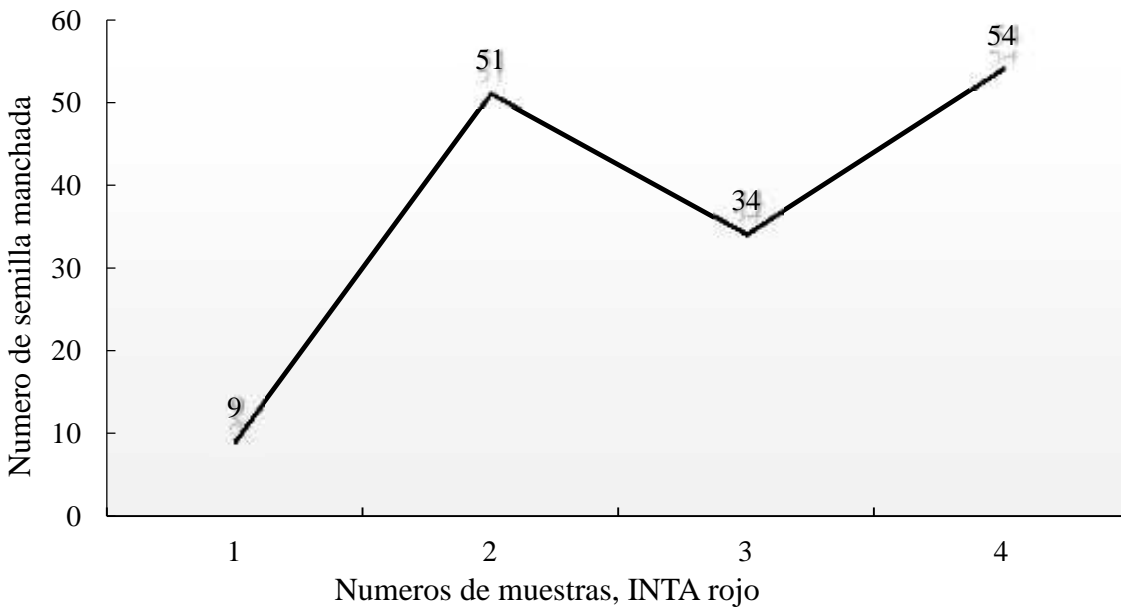


Figura 8. Número de semilla manchada/ kg, variedad INTA Rojo, II Semestre 2013

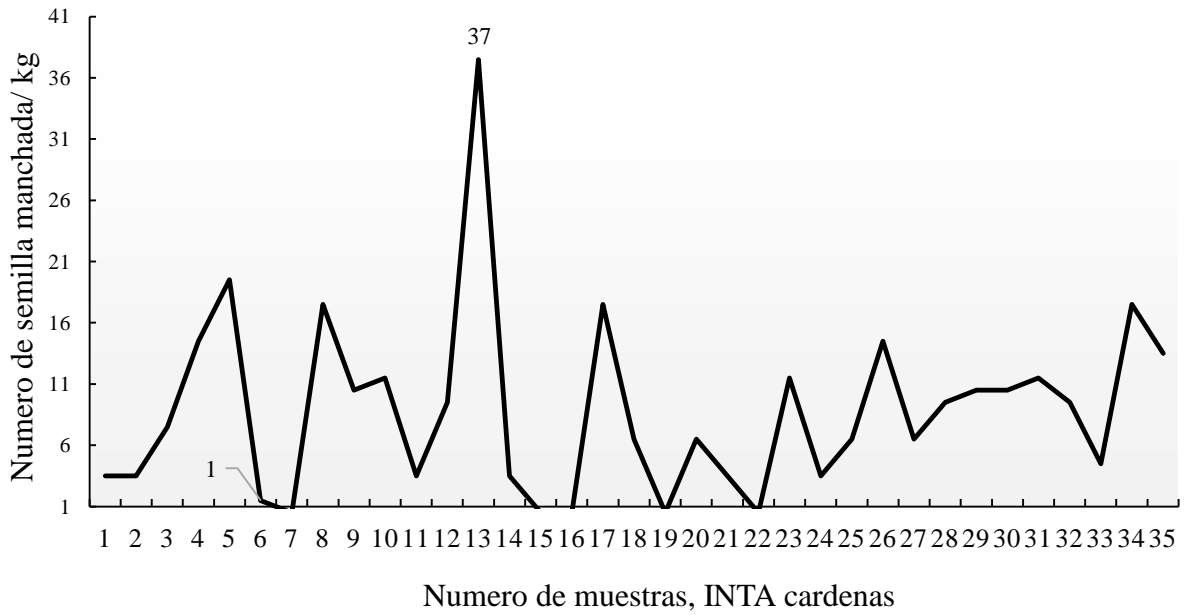


Figura 9. Número de semilla manchada/ kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014

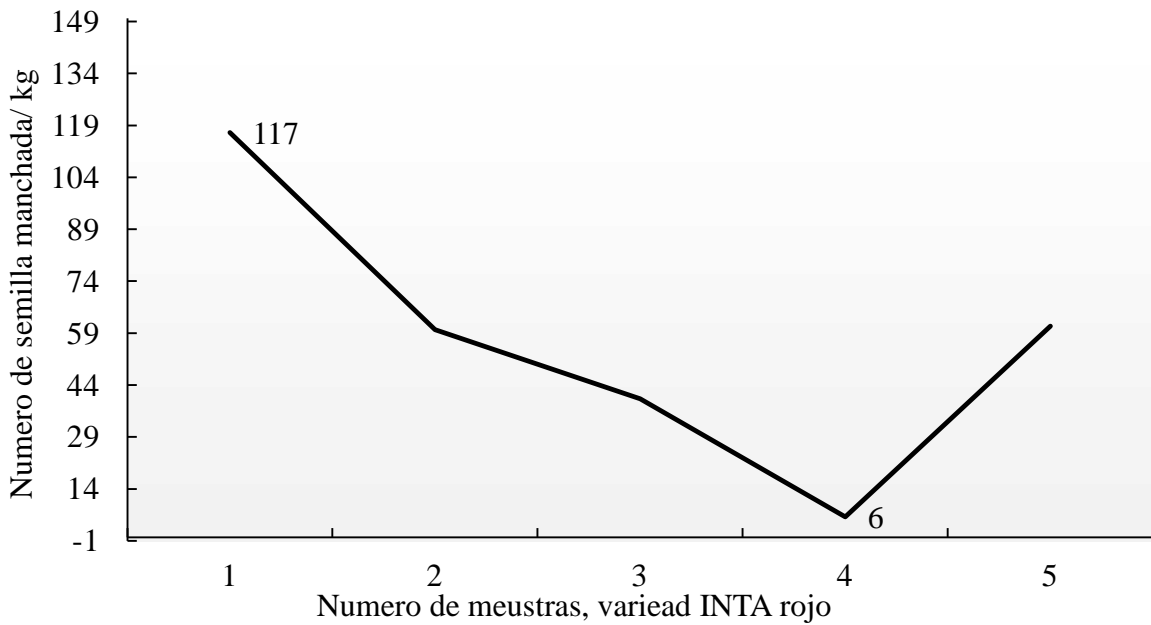


Figura 10. Número de semilla manchada/ Kg, INTA Rojo, I semestre de 2014

La presencia de semillas manchadas, también es asociada a patógenos que causan enfermedades en vainas de frijol en campo y estos son transmitidos por semillas y afectan la calidad de la semilla, el hongo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc-& Magn.) Scrib como consecuencia del ataque a las vainas, el patógeno logra infestar la semilla y causarle decoloración o deformación (Cid, Reveles y Velásquez, 2014).

Semilla con daño mecánico, II semestre 2013

En 46 de 58 muestras equivalente al 79.3%, se encontraron desde 4 hasta un máximo 57 semillas con daño mecánico de la variedad INTA Cárdenas.

En las cuatro muestras de la variedad INTA Rojo se encontraron desde 13 hasta 77 semillas con daño mecánico en las muestras del II semestre de 2013 (Figura 11 y 12).

Semilla con daño mecánico, II semestre 2014

Se encontraron semillas con daño mecánico en 30 de 35 muestras de la variedad INTA Cárdenas, equivalente al 85.7%, se encontraron desde una hasta un máximo 53 semillas con daño mecánico/ kg. (Figura 13). Se encontraron semillas con daño mecánico en las nueve muestras analizadas de la variedad INTA Rojo, equivalente al 100.0 %, se encontraron desde seis hasta un máximo 167 semillas con daño mecánico/ kg. (Figura 14).

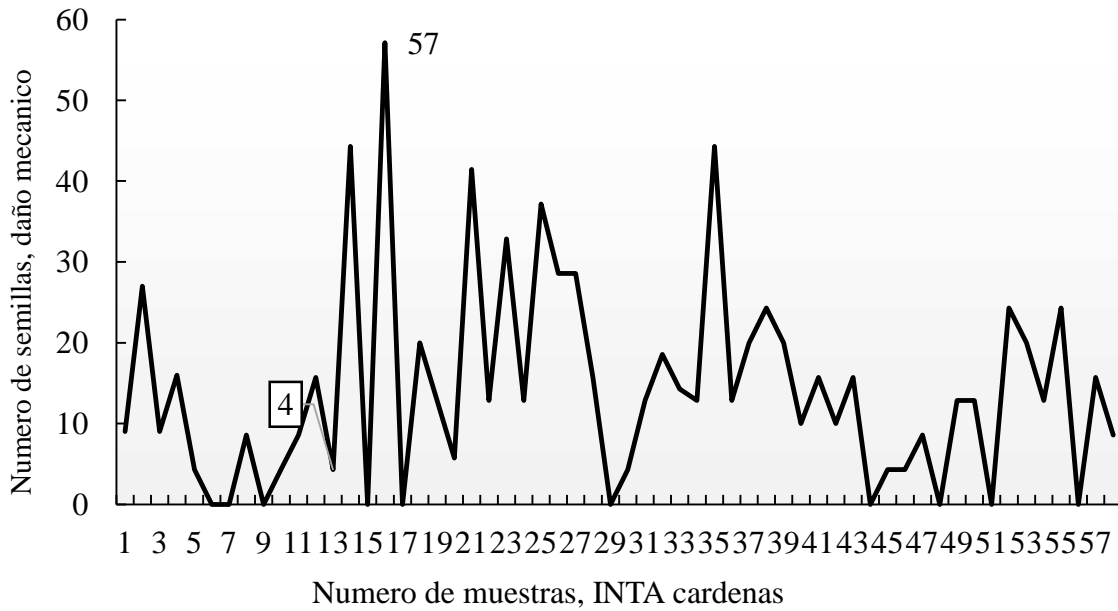


Figura 11. Número de semilla con daño mecánico/ kg., INTA Cárdenas, II semestre de 2013

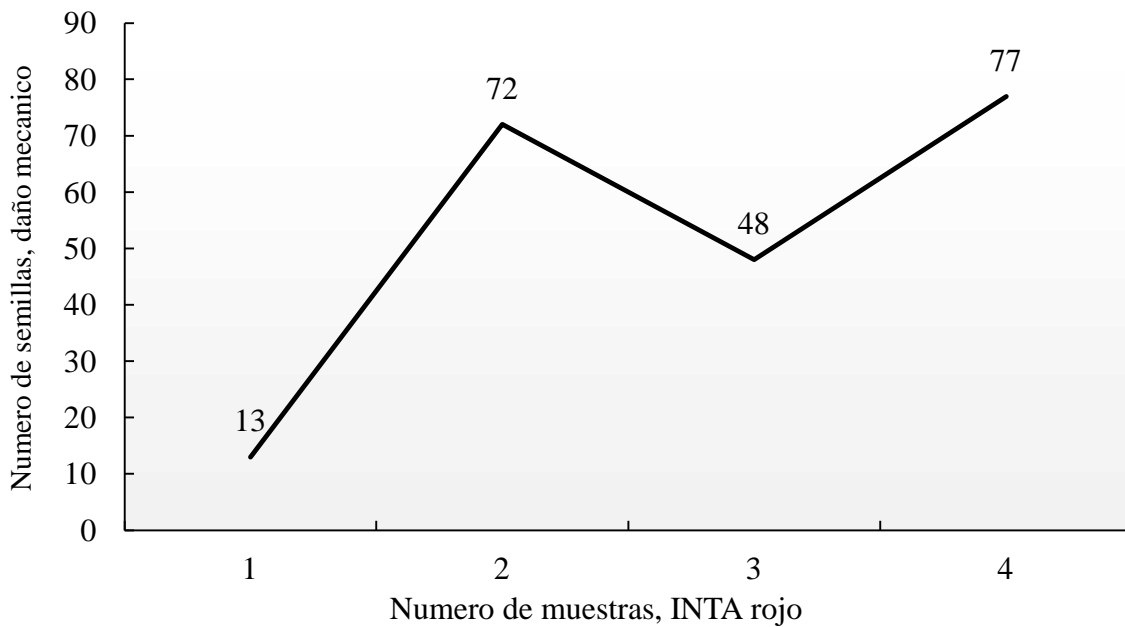


Figura 12. Número de semilla con daño mecánico/ kg, INTA Rojo, II semestre de 2013

En los análisis de la pureza física de la semilla, la variedad INTA Rojo, resultó con mayor número de semilla con daño mecánico, en los dos períodos de estudio. Las semillas con menor contenido de humedad son más susceptibles a los daños físicos; al disminuir el

contenido de humedad en la semilla, estas se vuelven menos plásticas, esto predispone a la semilla a daño mecánico (Hernández, 2014).

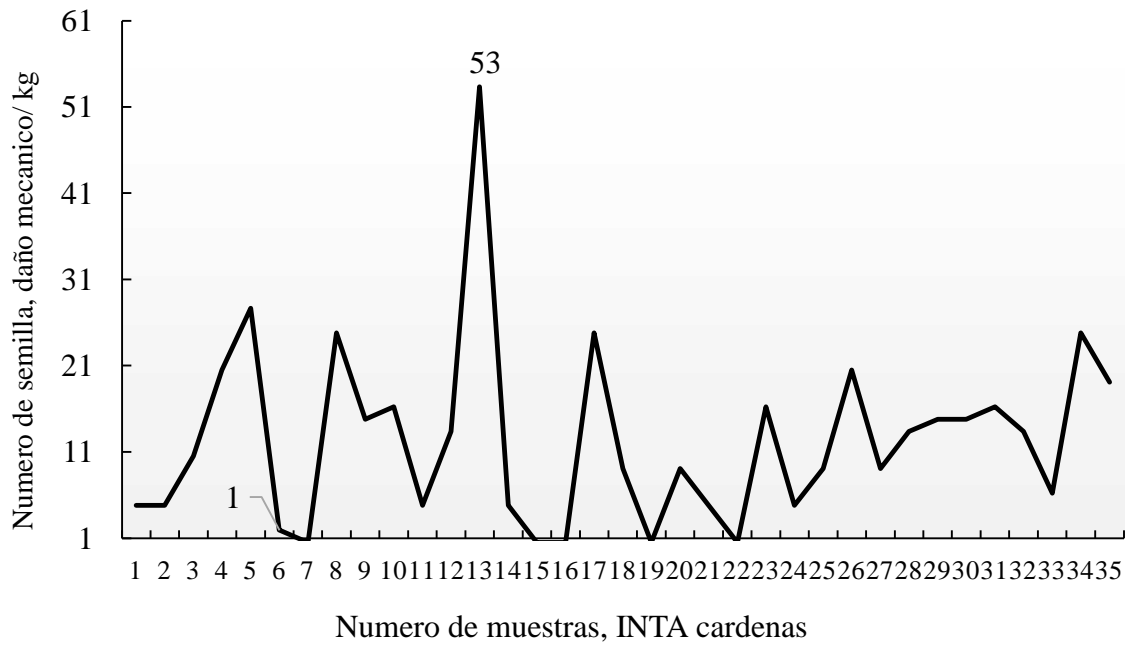


Figura 13. Número semilla daño mecánico/kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014

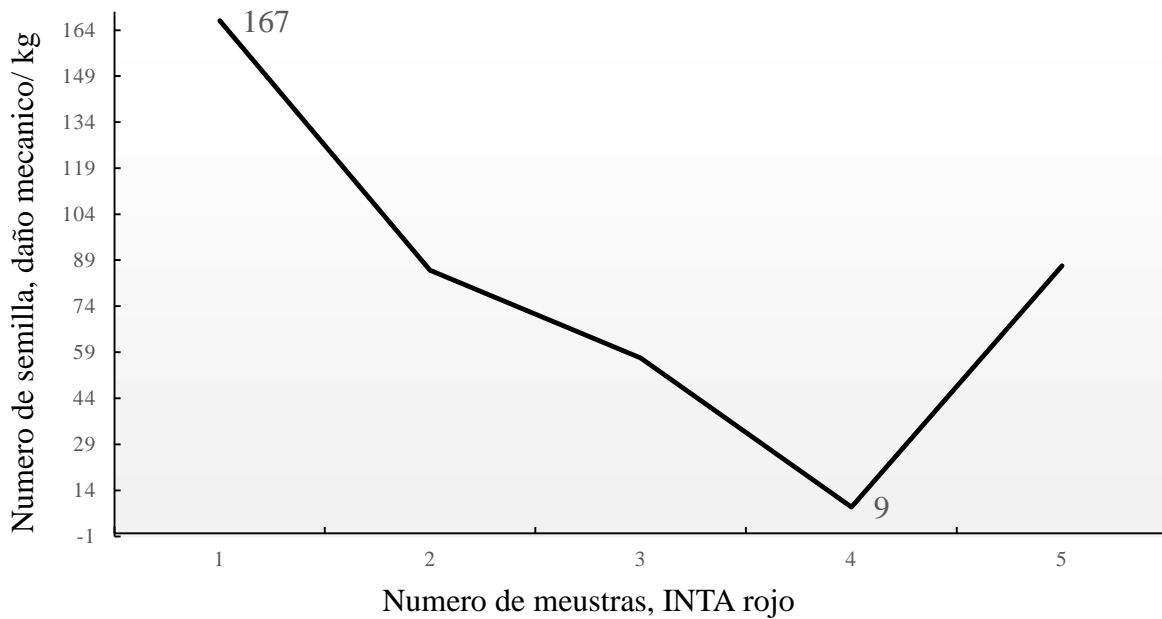


Figura 14. Numero semilla daño mecánico/kg, INTA Rojo, I semestre de 2014

Por su forma, tamaño, anatomía, y estructura la semilla de frijol es sensible a los impactos o golpes. Cuando el contenido de humedad de la semilla es alto (mayor de 15%), su tejido es elástico y se aplasta o lesiona con facilidad al recibir un impacto; estos daños pueden no ser notorios a simple vista, pero los tejidos golpeados sufren lesiones internas. Por otro lado, las semillas muy secas (menor de 15%) son frágiles y, al ser golpeadas, sufren fisuramiento de la testa y fracturas en los cotiledones o en el eje embrionario (Garay, Aguirre, Giraldo y Burbano, 1996).

Garay et al (1996), en las especies leguminosas como el frijol, la semilla en su totalidad es un embrión. Su única protección es la cubierta (testa; por tanto, cualquier daño causado por el ambiente, los patógenos, los golpes, etc., afecta directamente a la futura planta.

Leal, 1990 (citado por Hernández, 2005) complementa diciendo que una semilla que se cosecha con un contenido de humedad muy alto se puede disminuir su calidad al exponerla a un mayor daño mecánico, además de exponerse a un deterioro más rápido que reduzca su capacidad de almacenamiento.

Semilla con daño por insecto, II semestre 2013

Se determinó que, en 51 de 58 muestras, equivalente al 87.9 %, los que fluctuaron entre 3 y 69 semillas con daño por insectos/ kg., en lotes de la variedad INTA Cárdenas (Figura 15).

Para la variedad INTA Rojo, las semillas con daño por insecto, fue desde 6 hasta un máximo de 9 semillas, en 2 de 4 lotes (Figura 16).

Semilla con daño por insecto, I semestre 2014

En las muestras de la variedad INTA Cárdenas, se encontraron semillas con daño por insecto en 26 de 35, equivalente al 74.2%; desde tres hasta un máximo 27 semillas con daño por semilla/ kg. (Figura 17). Para la variedad INTA Rojo el daño por insecto en las cinco muestras analizadas, se encontraron desde tres hasta un máximo 103 semillas con daño por semilla/ kg. (Figura 18).

El mayor número de semillas dañadas por insectos (103 sem/ kg.), se reportó en semillas de la variedad INTA Rojo del I semestre de 2018, estudios relacionados con el contenido de

humedad y el daño causado por insectos en la semilla, comprueban; “calentamiento de semillas secas o calentamiento ocasionado por insectos que pueden desarrollarse en los granos con humedad cercana al 15% o menos, lo que produce temperaturas de hasta 42 °C (FUNICA, 2001).

Los insectos pueden causar daños a las semillas tanto en el campo como durante el almacenamiento, reduciendo drásticamente su calidad. Si la población de insectos crece en forma desmesurada, se produce un incremento de la temperatura y humedad de semillas, aumento del contenido de bióxido de carbono y una reducción del contenido de oxígeno del medio ambiente. El embrión puede sufrir diferentes grados de daño o hasta morir durante la alimentación de los insectos en su estado de adulto o larva, o durante la ovoposición. Si el embrión sobrevive, las reservas del endospermo pueden ser insuficientes para el desarrollo normal de la plántula. (FUNICA, 2001).

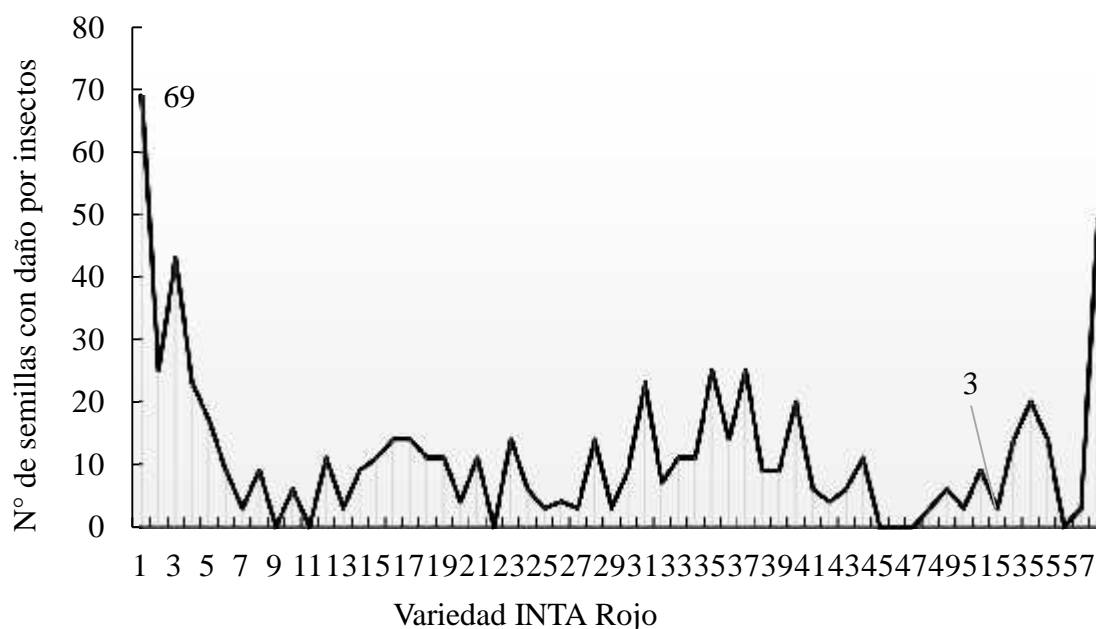


Figura 15. Número de semilla con daño por insecto/ kg, variedad INTA Cárdenas, II semestre de 2013

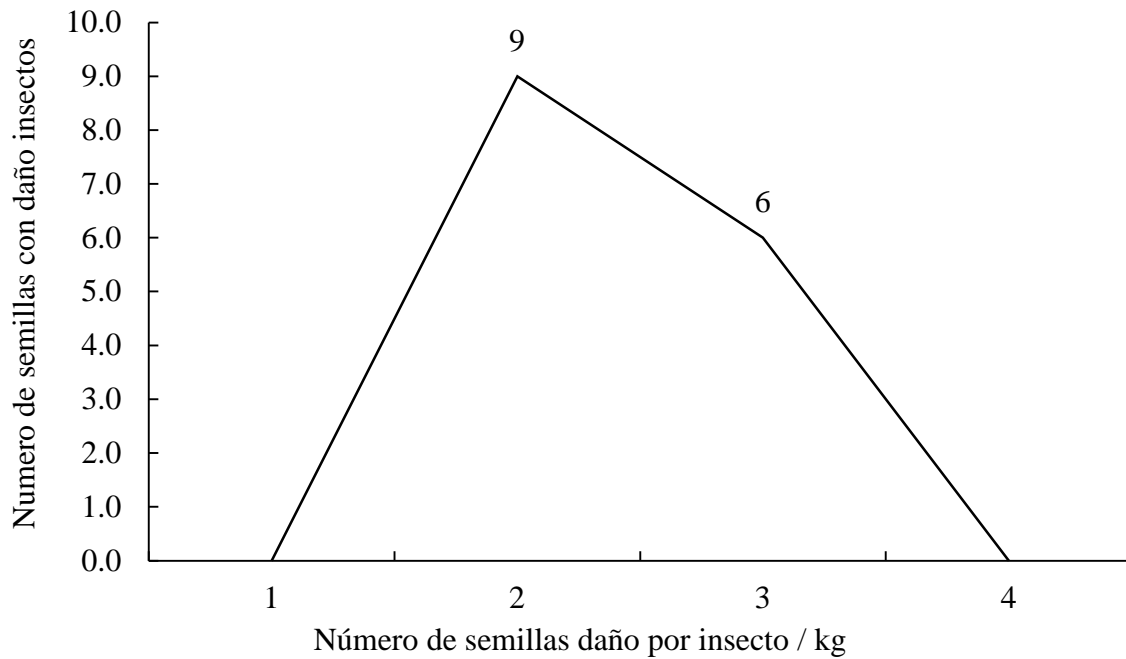


Figura 16. Número de semilla con daño por insecto/ kg, variedad INTA Rojo, II semestre de 2013

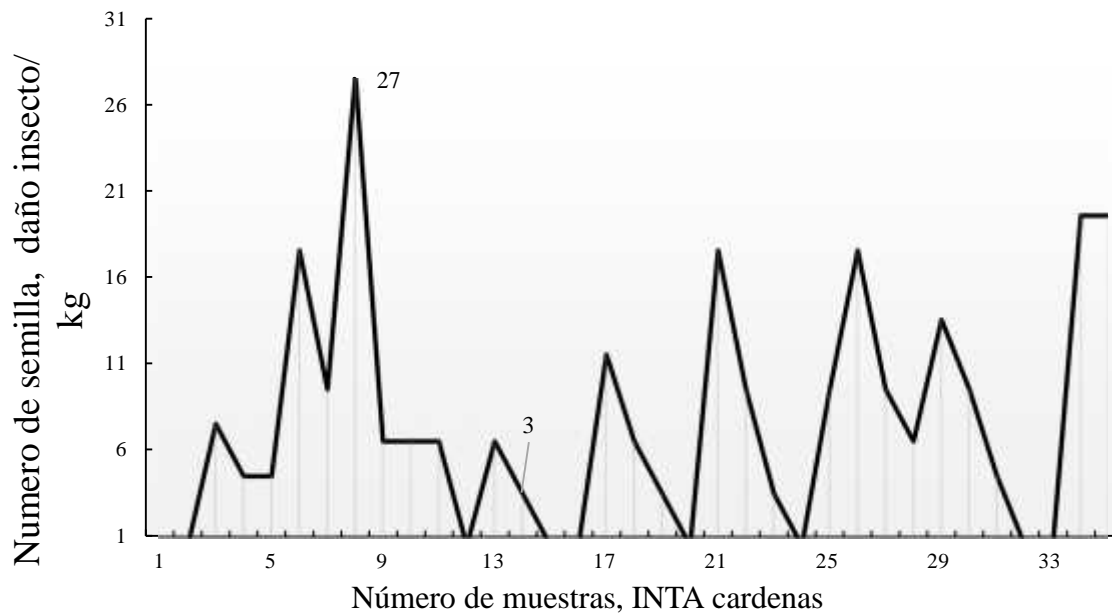


Figura 17. Numero semilla con daño por insecto/Kg, INTA Cárdenas, I semestre de 2014

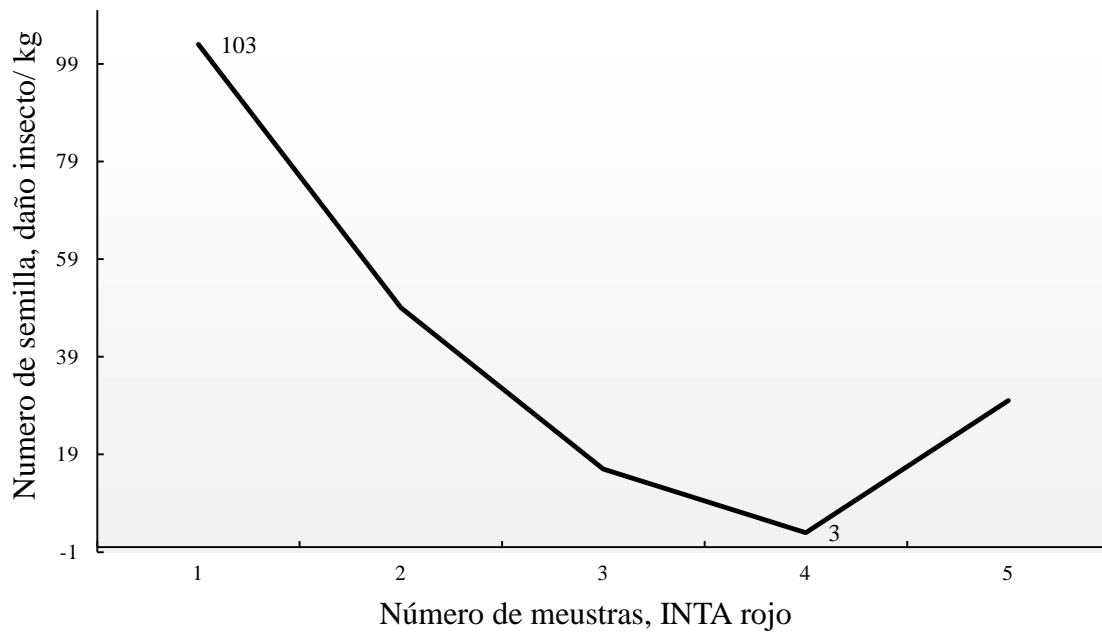


Figura 18. Numero semilla con daño por insecto/Kg, INTA Rojo, I semestre de 2014

4.4.4. Análisis de los resultados de la calidad física en los períodos de estudios

Las medias y la desviación estándar, para el contenido de humedad de los dos períodos de estudio, fueron, $IC_{95.0\%} = 14.41 \pm 1.24$ y $IC_{95.0\%} = 10.99 \pm 0.09$. El contenido de humedad en el 2013, 59.0% de las muestras, no cumplieron con el estándar de humedad, establecido en la norma. El peso del lote con $IC = 262.64 \pm 7.95$ y $IC = 250.67 \pm 13.19$, el mayor valor de la media resultó del período 2013, debido a la mayor cantidad de muestras procesadas, para la certificación de semilla (Cuadro 5).

Cuadro 5. Medias y error estándar de los análisis de calidad física de la semilla de frijol certificada en las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo, segundo semestre, 2013 y primer semestre 2014

	Año de evaluación		
	2013	2014	IC ($\mu \pm$)
Peso del lote (qq)	262.64 \pm 7.95	250.67 \pm 13.19	258.06 \pm 7.02
Humedad (%)	14.41 \pm 1.24	10.99 \pm 0.09	13.15 \pm 0.80
Sem Man / kg	12.16 \pm 1.50	17.71 \pm 4.02	14.25 \pm 1.79
Sem D. Mec/kg	16.83 \pm 2.10	19.07 \pm 5.23	17.67 \pm 2.35
Sem D. Insc/Kg	11.56 \pm 1.63	10.58 \pm 3.02	11.195 \pm 1.52

4.4.5. Calidad fisiológica de la semilla

Germinación, II semestre de 2013

Los resultados del análisis de germinación para la variedad INTA Cárdenas, osciló entre el 72.0 % y 95.0 %, de las 58 muestras analizadas, 44 muestras correspondieron al 75.9 %, las que superaron el 80.0 %, estándar mínimo de germinación requerido; 14 muestras, correspondientes al 24.7 % no cumplieron con el estándar mínimo (Figura 19).

La germinación para la variedad INTA Rojo, osciló entre el 73.0% y 99.0%, solamente una de cuatro muestras, una no cumplió con el estándar mínimo (Figura 20).

Germinación de la semilla, I semestre de 2014

La germinación para la variedad INTA Cárdenas, osciló entre el 80.0% y 100.0% de germinación, en todas las muestras de lotes analizados, cumplieron y superaron el valor estándar mínimo del 80.0 %, (MINECO et al, 2010). Los porcentajes para la variedad INTA Rojo oscilaron entre el 89.0 % y 99.0 % de germinación (Figuras 21 y 22).

En los lotes de semilla que resultaron con porcentajes de humedad superiores al 13.0%, hasta un 14.5%, mostraron una germinación por encima del parámetro; esta semilla almacenada bajo condiciones adecuadas, puede permanecer viable, sin alterar su calidad. Los parámetros de calidad para semilla certificada en la norma, no establecen una condición para porcentajes de humedad superiores al estándar (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de valores entre contenido de humedad, 13.0% y germinación, 80.0%, en semillas analizadas en el segundo semestre, 2013.

<i>Variable</i>	<i>Humedad (%)</i>	<i>Germ (%)</i>
Media	13.9	84.1
Desviación estándar	0.4	5.8
Mínimo	13.1	66.0
Máximo	14.5	95.0

Los valores de contenido de humedad de las muestras analizadas en el primer semestre del 2013 que resultaron superiores al estándar de acuerdo a la norma, estas, presentaron porcentajes de germinación superiores al establecido; estos valores oscilaron entre 13.1 y 14.5%. De acuerdo a los resultados, estas muestras deberían ser almacenadas por cortos períodos de tiempo, en condiciones específicas de almacenaje.

Se ha demostrado que cuando la semilla tiene alto contenido de humedad (mayor del 13%) el poder de germinación disminuye considerablemente después de los 90 días de almacenamiento (Alizaga, 1985 citado por Cid, Reveles y Vásquez, 2014).

Aguirre, (1990), concluye en su estudio de evaluación de calidad fisiológica a contenidos de humedad entre 10.0 y 14.0%, que esta mantiene su calidad por corto tiempo, cuando se mantiene una temperatura de 30°C.

Cuando se almacena la semilla de frijol, en un cuarto frío, la baja temperatura disminuye su respiración o metabolismo y puede mantener o reducir su humedad. Al reducir el metabolismo, la semilla conserva por más tiempo su germinación y vigor. Así los factores básicos para un adecuado almacenamiento son: la humedad de la semilla, la cual debe ser del 13.0% o menos, una temperatura ambiente o en cuarto frío de 20 °C o menos y una humedad relativa menor del 60.0% (FAO. 2012 citado por FAO 2013).

Aguirre et al (1996), la semilla presenta datos de lectura temprana de germinación de 95 a 94%; y semillas con 16% de H, almacenadas a 32°C, que presentaron disminuciones en su germinación (4 días).

Al tratar la semilla de frijol se ha demostrado que reduce los riesgos de daño y pérdida provocados por hongos o insectos durante el almacenamiento, que de no aplicarlo se pueden traducir en pérdidas de rendimiento (Trutmann et al., 1992 citado por Cid, Reveles y Vásquez, 2014).

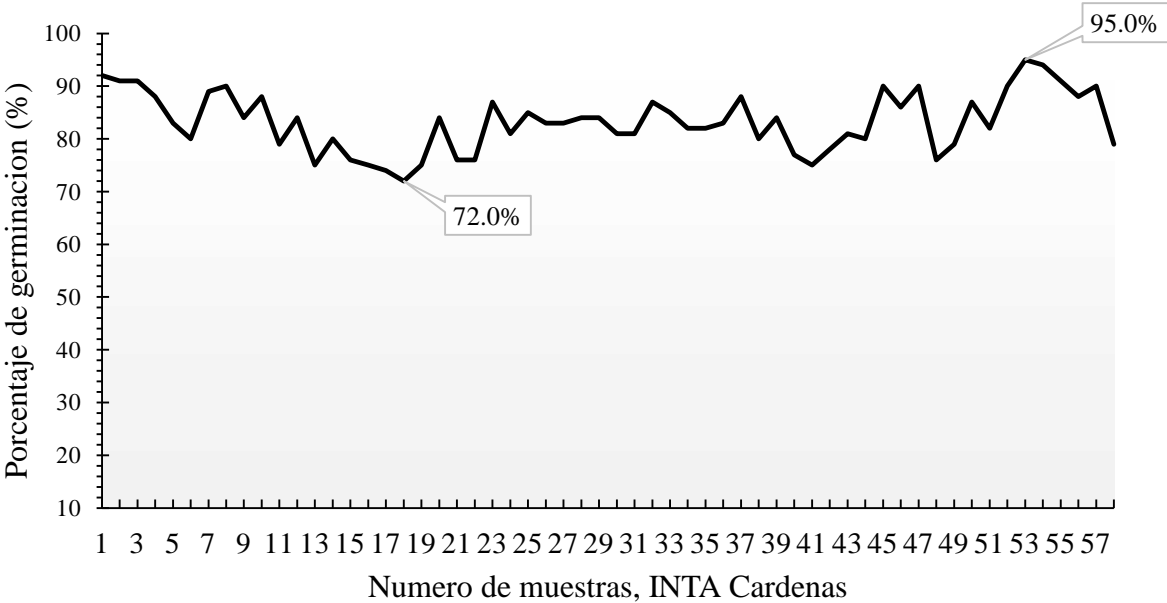


Figura 19. Porcentaje de germinación, variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013

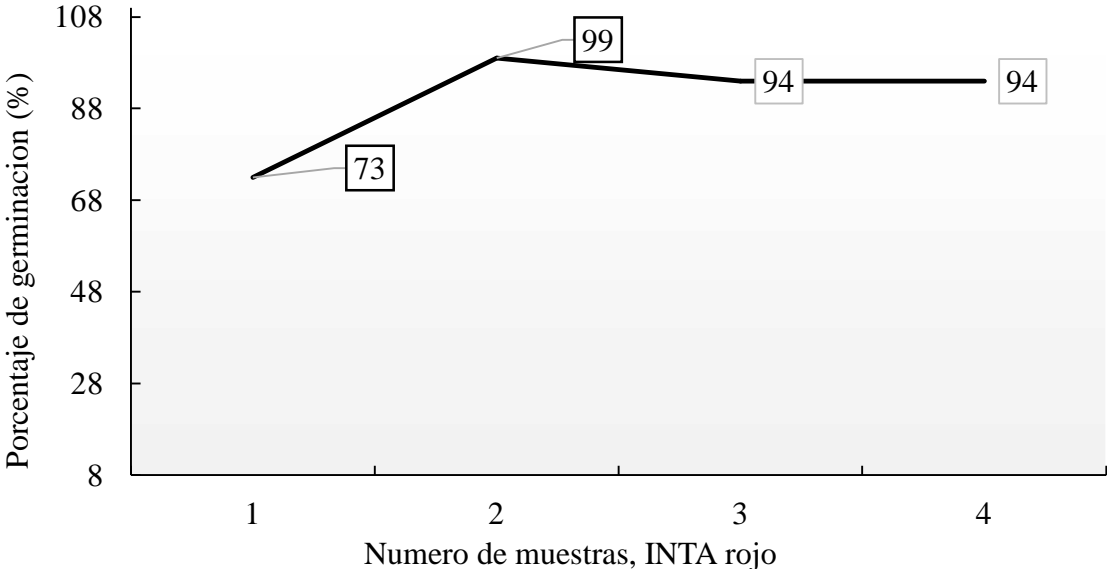


Figura 20. Porcentaje de germinación, variedad INTA Rojo, II semestre 2013

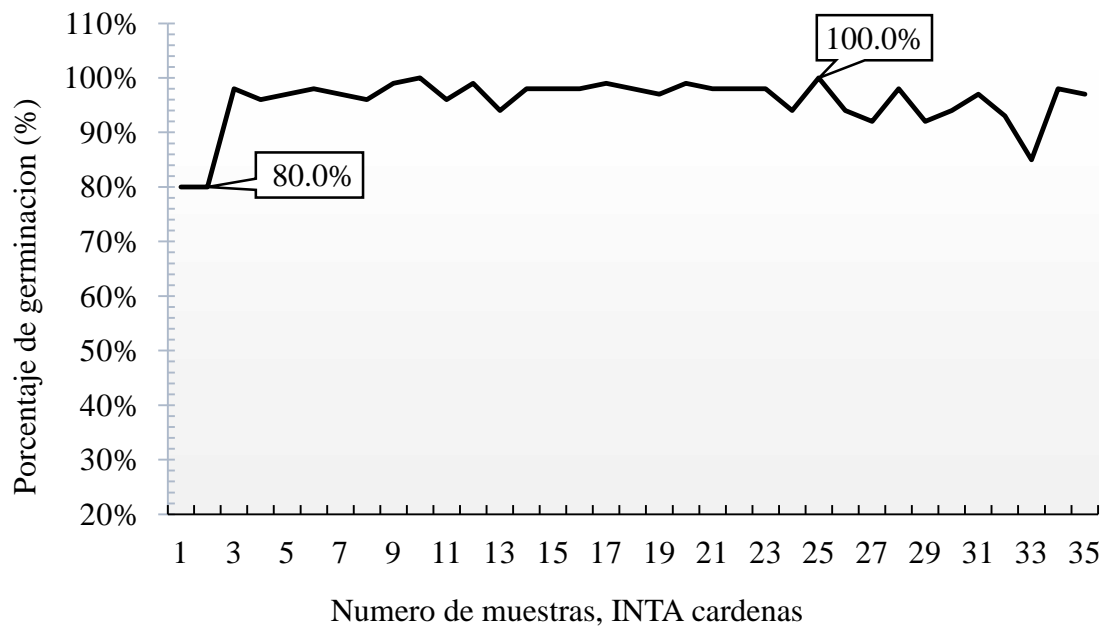


Figura 21. Porcentaje de germinación de variedad I. Cárdenas , I semestre 2014

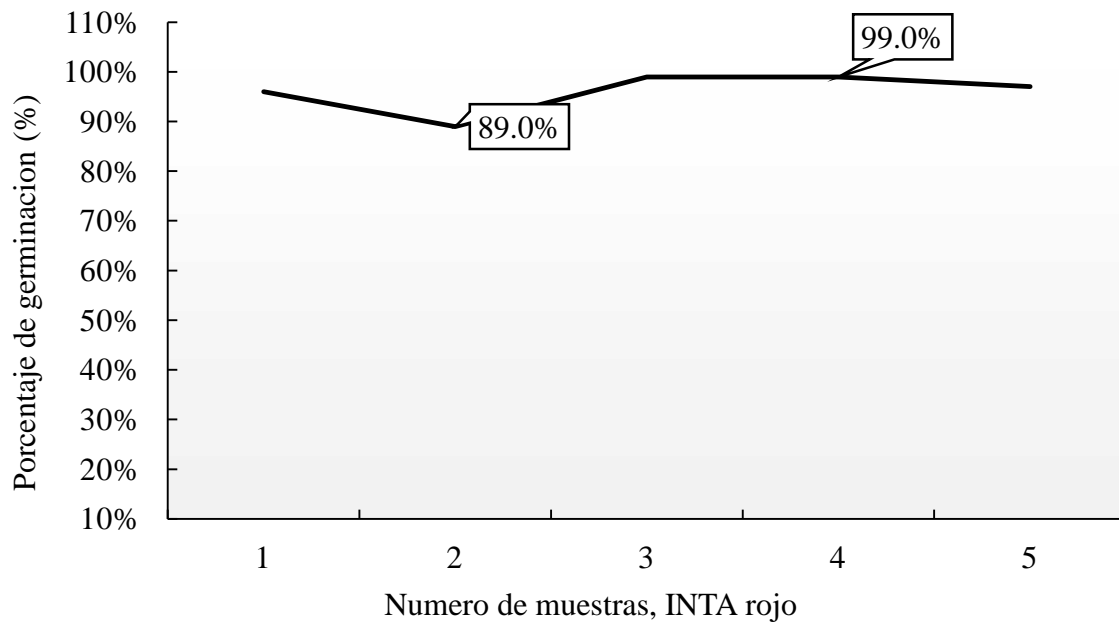


Figura 22. Porcentaje de germinación de la variedad I. Rojo, I semestre 2014

Contenido de humedad y germinación, II semestre de 2013

Las variables de la calidad física (humedad) y calidad fisiológica (germinación); en la variedad INTA Cárdenas e INTA Rojo; en el análisis estadístico de los datos para estas variables no se encontró correlación. No obstante, las muestras de semillas con contenido de humedad superior al 13.0%, su germinación resultó por arriba del 80.0%, en 24 de las 34 muestras de semillas analizadas en la variedad INTA Cárdenas (Figura 23).

Para la variedad INTA Rojo, las muestras registraron porcentajes de germinación por encima del 13.0%. Las de las cuales el 75.0% de las muestras cumplieron con el porcentaje de germinación óptimo (Figura 23).

Contenido de humedad semillas de frijol, I semestre de 2014

Para la variedad INTA Cárdenas 35 cumplieron con el porcentaje óptimo de humedad, de estas el 100.0% cumplió con el porcentaje óptimo de germinación. Para la variedad INTA Rojo 5 de las muestras cumplieron con el porcentaje óptimo tanto de humedad como para germinación ((Figura 24).

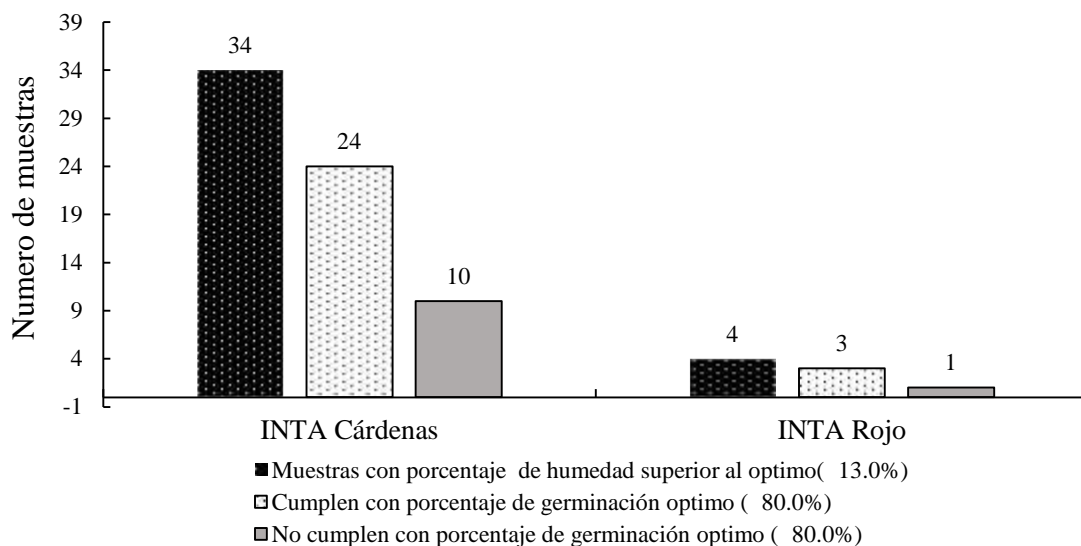


Figura 23. Número de muestras con porcentaje de humedad superior al óptimo 13% y porcentaje de germinación óptimo, 80%, II semestre, 2013..

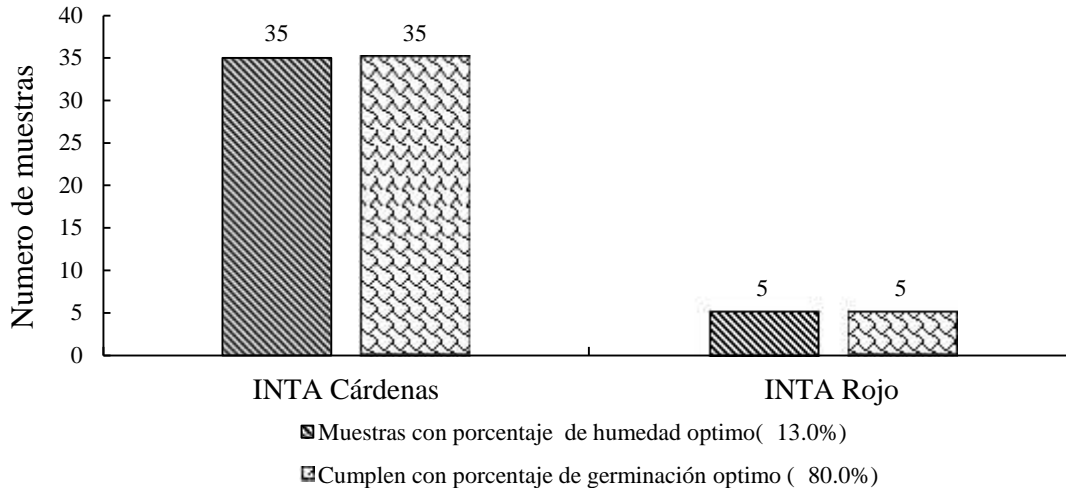


Figura 24 Número de muestras con porcentaje de humedad superior al óptimo 13% y porcentaje de germinación óptimo, 80%, I semestre, 2014

4.4.6. Análisis de los resultados de la calidad fisiológica en los períodos de estudios

Las medias y error estándar, para la germinación de los dos períodos de estudio, fueron, $IC_{95.0\%} = 90.29 \pm 0.54$ y $IC_{95.0\%} = 91.51 \pm 2.89$. El contenido de humedad el semestre 2013, el 59.0% de las muestras, no cumplieron con el estándar, no obstante, el 41.0% cumplieron con el valor estándar de germinación (Figura 23 y Cuadro 8).

Cuadro 7. Media y error estándar del porcentaje de germinación, del II semestre y I semestre, 2014

	Año de evaluación		
	2013	2014	$IC_{95.0\%} (\mu \pm)$
Germinación	90.29 ± 0.54	91.51 ± 2.89	90.75 ± 1.15

4.2. Segunda etapa, determinación de la calidad sanitaria

Los géneros de hongos y bacterias sobre la superficie de las semillas correspondieron a la variedad INTA Cárdenas.

4.2.1. Porcentaje de infección de semillas, II semestre 2013

En el período de 2013, los porcentajes de infección en semillas por hongos fluctuaron entre 1.0 y 18.0% y de bacterias entre 1.0 y 13.0% en la variedad INTA Cárdenas (Figura 25).

4.2.2. Porcentaje de infección de semillas, I semestre 2014

Los porcentajes de infección por hongos, fluctuaron entre 1.0 y 9.0% y para bacterias entre 2.0 y 4.0% en la variedad INTA Cárdenas, (Figura 26).

Los mayores porcentajes de infección por hongos y bacterias, se presentaron en el II semestre de 2013; el 59.0% de las muestras analizadas, resultaron con contenido de humedad del 13.2 al 14.5%, estos valores son superiores al 13.0%, establecido por la norma (Figuras 2 y 25).

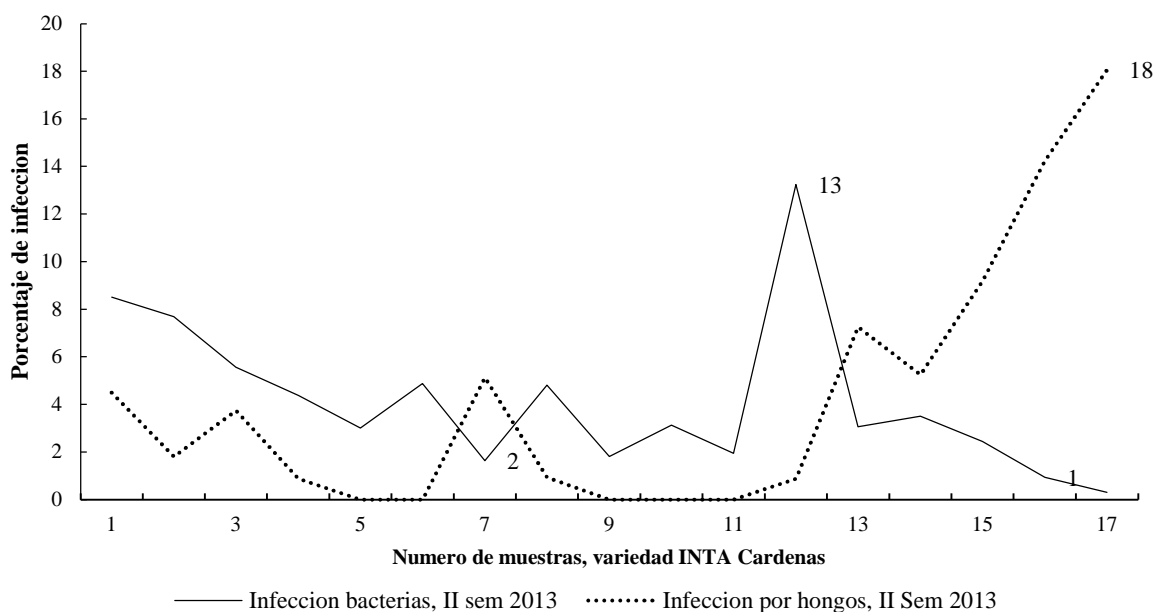


Figura 25. Porcentaje de infección, variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013

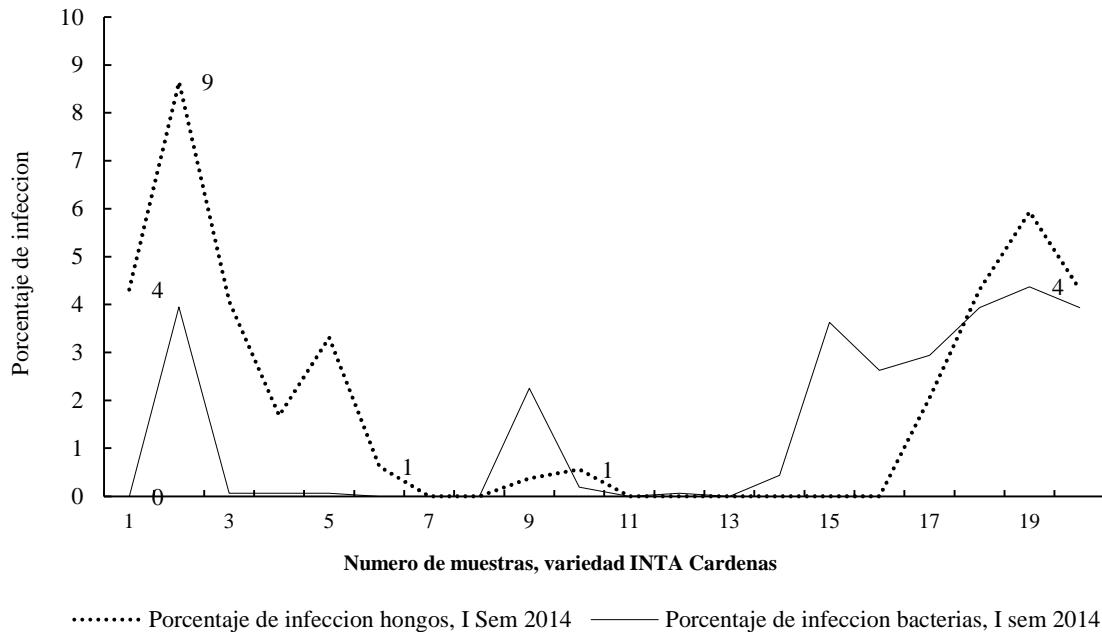


Figura 26. Porcentaje de infección , variedad INTA Cárdenas, I semestre 2014

4.2.3. Géneros de hongos y bacterias identificados

Hongos identificados en la variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013

En esta variedad, los hongos identificados fueron los siguientes; *Septonema sp.*, fue el que presento mayor frecuencia, seguido de *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Verticillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.*, y *C. lindemuthianum*. (Cuadro 9).

Bacterias identificadas en la variedad INTA Cárdenas, II semestre 2013

Se identificaron dos especies, *Pseudomonas sp.*, (Cuadro 10).

Frecuencia de hongos identificados en la variedad INTA Cárdenas, I semestre de 2014

Los hongos identificados, se presentaron en el siguiente orden; *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Verticillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*, y *Septonema sp.* (Cuadro 8).

Frecuencia de bacterias identificados en la variedad INTA Cárdenas, I semestre de 2014

Se determinaron frecuencias de aparición de dos bacterias como *Pseudomonas sp.*, seguido de *Bacillus sp.* (Cuadro 9).

Cuadro 8. Frecuencia de géneros de hongos identificados en muestras de semillas de INTA Cárdenas, II semestre, 2013 y I semestre de 2014

Segundo semestre, 2013		Primer semestre, 2014	
<i>Septonema sp.</i>	100	<i>Aspergillus sp.</i>	40
<i>Fusarium sp.</i>	82	<i>Fusarium sp.</i>	35
<i>Aspergillus sp.</i>	82	<i>Penicillium sp.</i>	30
<i>Verticillium sp.</i>	71	<i>Pythium sp.</i>	30
<i>Trichoderma sp.</i>	65	<i>C. lindemuthianum</i>	25
<i>Aspergillus niger</i>	35	<i>Verticillium sp.</i>	20
<i>Rhizoctonia sp.</i>	35	<i>Septonema sp.</i>	10
<i>Penicillium sp.</i>	24	<i>Aspergillus niger</i>	15
<i>Cladosporium sp.</i>	24	<i>Trichoderma sp.</i>	5
<i>C. lindemuthianum</i>	6	<i>Rhizoctonia sp.</i>	5
<i>Pythium sp.</i>	0	<i>Cladosporium sp.</i>	0

Cuadro 9. Frecuencia de géneros de bacterias identificadas en muestras de semillas de INTA Cárdenas, II semestre, 2013

Géneros de bacterias	Frecuencia (%)	
	Segundo semestre 2013	Primer semestre 2014
<i>Pseudomonas sp.</i>	94.0	15.0
<i>Bacillus sp.</i>	88.0	70.0

Los mayores contenidos de humedad en la semilla se presentaron en el segundo semestre de 2013 (Cuadro 6), siendo este más amplio que el de 2014, esto, indujo a una mayor actividad microbiana durante el período 2013.

En ambos períodos predominaron los porcentajes de infección por hongos que los de bacterias (Figuras 25 y 26). Los valores de la media y el número de muestras con daño por insectos fueron mayores en 2013 (Cuadros 5 y 6)

Al aumentar la temperatura, los hongos y los insectos crecen más rápido y la semilla tiende a incrementar su respiración. Con altos contenidos de humedad este proceso se acelera y las áreas de calentamiento se pueden transformar en áreas de gran actividad de hongos e insectos (Brenes, 2007).

Los hongos causan el mayor número de enfermedades en plantas y ocurren con mayor frecuencia en semillas que los virus, las bacterias, o nematodos (Castaño-Zapata y Zepeda, 1987).

Por lo tanto, las semillas de frijol pueden ser un medio ideal para el transporte de inóculo de patógenos de origen fungoso, viral, bacteriano o nematodos e inclusive de nematodos. Por ejemplo, Richardson (1979), reporta 32 hongos, 12 virus, siete bacterias y un nematodo, que se transmiten a través de la semilla.

En ambos semestres se encontraron los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum lindemuthianum* (Cuadro 10), patógenos de los cuales se reportan algunas especies transmitidas por semilla. *C. lindemuthianum*, es conocido como antracnosis en frijol, dentro del género *Rhizoctonia*, existen especies como *R. solani*, que produce la enfermedad conocida como mustia hilachosa.

La antracnosis, afecta severamente al cultivo ocasionando pérdidas totales, esta afecta todas las partes aéreas de la planta y es capaz de transmitirse por semillas, la mustia hilachosa produce la enfermedad conocida como mustia hilachosa, que también afecta las partes aéreas de la planta y es capaz de transmitir por semillas (COSUDE, INTA, IICA, REDSICTA, ATC, 2010).

En una semilla de mala calidad, se pueden transportar hongos habitantes del suelo, que una vez introducidos al campo, son muy difíciles de manejar, como, por ejemplo, *Fusarium oxysporum* Schlechtend y *Rhizoctonia solani* Kühn (Castaño-Zapata y Zepeda, 1987).

También se reportaron géneros de hongos reportados como saprofitos, pero que afectan la calidad de la semilla, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Verticillium* y *Cladosporium*. También se reporta la presencia de *Trichoderma sp.* (Cuadro 10), este último está ampliamente vinculado a relaciones de antagonismo con especies de hongos patogénicas.

Recientes investigaciones concluyeron que una parte significativa del gas carbónico (CO₂) que se produce durante la respiración, se debe al metabolismo de los insectos presentes en los granos secos ya los microorganismos (sobre todo hongos) presentes en los granos húmedos. Cuando los hongos son los principales agentes responsables del aumento del proceso respiratorio se puede llegar a un punto en que los granos húmedos dejan de ser organismos vivos y pasan a ser un substrato alimenticio de los hongos, que siguen respirando y transformando la materia seca de los granos en gas carbónico, agua y calor.

Martínez, Cantillo, García, (2014), menciona que los hongos que contaminan las semillas en el campo usualmente permanecen inactivos durante su almacenamiento. Sin embargo, los que inciden en almacén, producen afectaciones debido a su capacidad de crecer en condiciones de baja humedad en la cuales la mayoría de los hongos no consiguen desarrollarse. La mayoría de los hongos fitopatógenos asociados al frijol emplean las semillas como vehículos de introducción en nuevas áreas donde bajo condiciones favorables pueden causar pérdidas considerables en el cultivo.

Penicillium sp., *Aspergillus sp.* y *Alternaria sp.*, son considerados hongos de incidencia en almacén (Amadi y Adeniyi, 2009)

Dentro de los medios biológicos de mayor uso para el combate de los hongos patógenos en los diferentes cultivos y países se encuentra *Trichoderma spp.*, (González, Castellanos, Ramos y Pérez, 2005).

En ambos semestres se reportaron *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, alcanzaron porcentajes de infección superiores para 2013 que el reportado en 2014 (Figuras 25 y 26).

Enfermedades bacteriales, como el Tizón de halo (*Pseudomonas syringae pv. phaseolicola* Van Hall), la Mancha parda (*Pseudomonas syringae pv. syringae* Van Hall), el Tizón común (*Xanthomonas campestris pv. phaseoli* Smith) y la Marchitez (*Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* (Hedges) Dowson), afectan al cultivo de frijol y áreas de producción. Debido a que estas bacterias se transmiten por semilla, la presencia de plantas enfermas en los campos de semillas afecta la elegibilidad de certificación de la cosecha, según la definición de las normas de certificación y los reglamentos. Los ataques

de enfermedades bacteriales reducen el rendimiento y la calidad de la cosecha (Franc, 1998 citado por Montoya y Castaño, 2011).

4.3.Relación entre las variables de calidad física, fisiológica y fitosanitaria, 2013

Se realizaron correlaciones entre variables de calidad física; semilla con daño mecánico y semilla con daño por insectos, semilla manchada y semilla con daño mecánico y semilla con daño mecánico y contenido de humedad (Cuadro 10).

4.3.1.Correlación daño mecánico y daño por insectos, INTA Cárdenas, Segundo semestre de 2013

El análisis de correlación entre semilla con daño mecánico y daño por insectos, en la variedad INTA Cárdenas; se determinó un coeficiente de determinación, $R^2 = 94.0\%$ y un nivel de significancia de $<.0001$ (Cuadro 10). Esto implica que existe una fuerte correlación entre estas variables, en la medida que el daño mecánico aumenta, aumenta el daño por insectos.

Las medias y error estándar entre las variables daño mecánico y daño por insectos, $IC_{95.0\%} = 16.83 \pm 2.10$ y $IC_{95.0\%} = 11.56 \pm 1.63$, mostraron menor variación que los de 2014 (Cuadro 6).

El daño mecánico, está influenciado por el daño de insectos a la semilla; estos parámetros no están reglamentados en la norma RTCA, sin embargo, afectan la apariencia de la semilla. La obtención de un producto terminado y pulido al momento de la maquilación del producto, que proporciona una semilla de calidad.

Jaen, (comunicación personal, 27 de septiembre, 2018), afirma que la presencia de semilla con daño mecánico y semilla dañada por insectos, resulta una entrada para el insecto, facilita la infestación (Jaen², 2018, comunicación personal).

4.3.2.Correlación semilla manchada y daño mecánico, II semestre 2013

El análisis de correlación entre las variables semilla manchada y semilla con daño mecánico en la variedad INTA Cárdenas; se determinó un coeficiente de determinación, $R^2 = 96.0\%$ y un nivel de significancia de $<.0001$ (Cuadro 10), existe una fuerte correlación, entre más aumenta el daño mecánico, mayor es el número de semilla manchada.

² Jaen, V. J.M. 2018, Sección Calidad de Semillas, LNDFCS

Las muestras presentaron un promedio del número de semilla mancha de 12.16 y un error estándar de 1.50, para daño mecánico, presentaron una media de 16.83, con error estándar de 2.10, estos datos presentaron menor variación (Cuadro 6), que los observados en el I semestre de 2014, en donde no se encontró correlación positiva entre estas variables.

Debido a que la semilla manchada, puede ser consecuencia de factores como humedad, presencia de patógenos.....

4.3.3. Correlación semilla con daño mecánico y humedad, II semestre 2013

El análisis de correlación entre las variables semilla con daño mecánico y humedad en la variedad INTA Cárdenas; se determinó un coeficiente de determinación, $R^2 = 90.0\%$ y un nivel de significancia de $<.0001$ (Cuadro 10). En los resultados de este semestre, las muestras presentaron un promedio del número de semilla con daño mecánico de 16.83 y un error estándar de 2.10, para el contenido de humedad, presentaron una media de 14.41, con error estándar de 1.24, estos datos presentaron menor variación con respecto al daño mecánico que los observados en el I semestre de 2014 (Cuadro 6), en donde se encontró una correlación débil entre las variables.

Por su forma, tamaño, anatomía, y estructura la semilla de frijol es sensible a los impactos o golpes. Cuando el contenido de humedad de la semilla es alto (mayor de 15%), su tejido es elástico y se aplasta o lesiona con facilidad al recibir un impacto; estos daños pueden no ser notorios a simple vista, pero los tejidos golpeados sufren lesiones internas. Por otro lado, las semillas muy secas (menor de 15%) son frágiles y, al ser golpeadas, sufren fisuramiento de la testa y fracturas en los cotiledones o en el eje embrionario (Garay, Aguirre, Giraldo y Burbano, 1996).

Leal (1990, citado por Hernández, 2005) complementa diciendo que una semilla que se cosecha con un contenido de humedad muy alto se puede disminuir su calidad al exponerla a un mayor daño mecánico, además de exponerse a un deterioro más rápido que reduzca su capacidad de almacenamiento.

4.3.4. Correlación semilla con daño por insecto y humedad, II semestre 2013

El análisis de correlación entre las variables semilla con daño por insecto y humedad en la variedad INTA Cárdenas; se determinó un coeficiente de determinación, $R^2 = 65.0\%$ y un nivel de significancia de 0.0001 (Cuadro 10), existe una moderada correlación entre estas variables, a medida que aumenta la humedad aumenta el daño por insectos, entre mayor es el contenido de humedad en la asemilla, el daño por insectos se ve incrementada consecuencia de una mayor actividad de los mismos.

En el almacenamiento de semillas de frijol el ataque de insectos, especialmente gorgojos, los cuales sólo dejan de ser activos en semillas con una H inferior al 8% (Roberts, 1972). Pero pueden sobrevivir en condiciones de muy bajas concentraciones de oxígeno (Aguirre, 1990).

4.3.5. Correlación semilla manchada y daño por insecto, II semestre 2013

El análisis de correlación entre las variables semilla manchada y semilla con daño por insecto en la variedad INTA Cárdenas; se determinó un coeficiente de determinación, $R^2 = 91.0\%$ y un nivel de significancia de $<.0001$ (Cuadro 10).

La semilla manchada y el daño por insecto, mostraron valores de $IC_{95.0\%} = 12.16 \pm 1.50$ y $IC_{95.0\%} = 11.56 \pm 1.63$, respectivamente, mostraron menor variación que los observados en 2014, en donde el error estándar mostro mayor variación para estas dos variables (Cuadro 6).

Cuadro 10. Correlación entre variables de calidad física, correspondientes al 2do semestre de 2013

	Humedad	Seman	Sedame
Semdains	0.6512	0.9063	0.94339
	0.0001	<.0001	<.0001
Sedame	0.90349	0.96301	1.0
	<.0001	<.0001	

Germ = Germinación; Sedame = Semilla con daño mecánico; Seman = Semilla manchada; Semdains=Semilla con daño por insectos.

V. CONCLUSIONES

Las muestras analizadas en semillas de frijol para las variedades INTA Cárdenas e INTA Rojo, de los dos períodos de estudio, cumplieron con la calidad física, de acuerdo a la norma, no obstante, las germinaciones de las muestras en el primer período resultaron con porcentaje 80%, estas semillas deberían ser almacenadas por cortos períodos de tiempo, en condiciones específicas de almacenamiento, para el mantener su viabilidad

Los géneros de hongos y bacterias identificados en la testa de las semillas son especies saprófitas y de almacén, los porcentajes de infección resultaron más altos en los análisis del primer semestre; esto se relaciona con los valores medios de contenido de humedad >14% Estas especies identificadas fueron: *Septonema*, *Fusarium* y *Aspergillus*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Colletotrichum lindemuthianum* y *Pythium* y el género de bacteria *Pseudomonas*

Se determinó correlación entre las variables de calidad física, de 2013 la relación entre semilla manchada y daño mecánico fue del 96.0%, seguido de daño mecánico y daño por insectos 94.0%, semilla manchada y daño por insecto fue de 91.0%, daño mecánico y humedad fue de 90.0% y daño por insecto con contenido de humedad, fue moderada con 65.0%. En el 2014 no hubo correlación significativa entre las variables de calidad física.

VI. RECOMENDACIONES

Las semillas presentan porcentaje de humedades superiores al 13% hasta un 14%; se recomienda almacenarlas por períodos no mayor a 30 días a temperaturas < 30 °C

Realizar estudios de identificación de *Bacillus sp.* en otras variedades de frijol certificadas por método convencional y por PCR, para confirmar o descartar su presencia.

VII. LITERATURA CITADA

- Aguirre, R., Garay, E. Giraldo., & G. Burbano. 1996. II Naturaleza biológica de la semilla: Tecnologías pos cosecha para pequeñas empresas de semillas. Recuperado en: %20CIAT%20Frijol.pdf Buscar y añadir Link.
- Araya Villalobos, R., Martínez Umaña K., López Zúñiga Adrián., Murillo Williams A., Acondicionado de la semilla. Protocolo para el manejo pos cosecha de la semilla de frijol. 2013. Consultado en octubre de 2018. Disponible en https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/18/13838619cnejo_poscosecha_de_la_semilla_de_frijol_web.pdf.
- Banco Central de Nicaragua. 2015. Notas de Prensa. BCN publica estadísticas de granos básicos del ciclo 2014/2015 Recuperado de https://www.bcn.gob.ni/divulgacion_prensa/notas/2015/noticia.php?nota=83
- Bejarano., M. (23 de mayo de 2016). Más granos básicos en ciclo 2016-2017. Expectativa. Más de 20.6 millones de quintales de granos básicos es la meta del Gobierno en este invierno. El Nuevo Diario. Recuperado de <https://www.elnuevodiario.com.ni/economia/393338-mas-granos-basicos-ciclo-2016-2017/>
- Brenes, A. E. 2007. Decremento de la calidad fisiológica durante el almacenamiento en semillas de maíz, frijol y canola. Texcoco, México p19. Consultado el 22 de 2018. Disponible en Arto%20Brenes_Alcantara_E_MC_Produccion_Semillas%20Maiz,%20Frijol%20y%20Canola%202007.pdf
- CASTAÑO-ZAPATA, J., J. ZEPEDA y S. ZULUAGA. 1987. Epidemiología y control de Roya del frijol (*Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unq.) Mediante mezclas en Cuarenteño, variedad endémica de Honduras. CEIBA 30(1):1-19. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4024/1/CPA-1988-T045.pdf>
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1980. Guía de Estudio, Semilla de frijol de buena calidad., Recuperado de http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V35-Numero_1/cag071081588.pdf
- Cid R, J. A.; Reveles H, M.y Velásquez V. R.2014. Selección y almacenamiento de semilla de frijol. Folleto Técnico No. 64. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. Calera, Zacatecas, México, 17p, consultado el 15-11-2018, disponible en: <https://docplayer.es/37436315-Seleccion-y-almacenamiento-de-semilla-de-frijol.html>
- COSUDE, INTA, IICA, REDSICTA, ATC. 2010. Guía técnica para la producción artesanal de semilla de frijol. Proyecto de fortalecimiento la producción y comercialización de frijol rojo en tres municipios del departamento de Estelí: Principales enfermedades y su manejo. Estelí, NI. López, G. A.A., Molina, C.B.,

- Munguía, S.J. Consultado en noviembre de 2018. Disponible en [Guia%20tecnica%20prod%20de%20sem%20artesanal%20frijol%20Esteli%20Nic.pdf](#).
- DELOUCHE, J.; BASKIN, C. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci & Technol.* 1: 427-452. Consultado en noviembre de 2018. Disponible en <https://ir.library.msstate.edu/bitstream/handle/11668/13316/F-4.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Fernández, P. (1996). Determinación del tamaño muestral. *Cad Aten Primaria*,3, Pp 138-141. Sin ciudad de publicación. Consultado en Abril de 2014. Disponible en http://www.fisterra.com/mbe/investigacion/9muestras/tamano_muestral2.pdf.
- Franc, G. D. 1998. Bacterial diseases of beans. College of Agriculture. University of Wyoming Laramie, USA. 7p.*buscar la Fuente original
- Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua, (FUNICA), 2001. Manual para el manejo postcosecha de semilla. Recuperado de: [Manual%20postcosecha%20semilla.pdf](#) Buscar y añadir Link. NAPA 32
- FUNICA(a) (Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua). 2008. Análisis de la cadena subsectorial del Frijol. (en línea). Managua, NI Consultado el 17 de octubre 2013. Disponible en: <http://www.funica.org.ni/docs/Analisis-frijol.pdf>
- Gobierno de reconciliación y unidad nacional. 2016. Plan de producción consumo y comercio. Managua, Nicaragua. 99p. Consultado en octubre de 2018. Disponible en [1.%20Siii%20Plan%20de%20Producción%20Consumo%20y%20Comercio%20Ciclo%202017%202018.pdf.](#)
- González, R. M., Castellanos, G. L., Ramos, F. M. y Pérez, G. G. 2005. Efectividad de *Trichoderma spp.* Para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del frijol. *FITOSANIDAD* 9 (1). Autores. Consultado en noviembre de 2018. Disponible en [Eficacia%20de%20Trichoderma%20spp%20en%20control%20de%20enfermedades%20semilla%20de%20frijol.PDF](#).
- Hernández, M., O. 2005. Producción de semilla certificada de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) con dos tecnologías y en dos ambientes en el estado de zacatecas. (Maestro en tecnología de granos y semilla) Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". 59 p. Consultado el 30-10-2018. Recuperado de: [T15473%20HERNÁNDEZ%20MARTÍNEZ,%20OCTAVIO%20%20%20TESIS](#) Buscar y añadir Link. NAPA 40
- Hernández, P, R.O, 2014. DAÑO MECANICO EN LA SEMILLA DE FRIJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) DURANTE EL ACONDICIONAMIENTO: Daño mecánico. Maestro en ciencias. Texcoco, México. Colegio de Postgraduados. 98 p.

Consultado el 29-10-2018. Disponible en
file:///C:/Users/User/Desktop/Arto%20influenzia%20del%20D,%20mec%20en%20el
%20almac.docx.pdf

IICA, SICTA, COSUDE. 2009. Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucía, Teustepe y San Lorenzo del Departamento de Boaco, Nicaragua. Recuperado de <http://repiica.iica.int/docs/B1897e/B1897e.pdf>

Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA). 2016. Recepción de muestras: II Productores Nacionales en Procedimiento Técnico 5.17 Recepción, Manipulación, Almacenamiento y Disposición Final de las Muestras. IPSA V2. Managua, Nic.

Jaen, M. 27 de septiembre, 2018. Comunicación personal: Daño mecánico y daño por insectos en semilla de frijol. Responsable de sección de Calidad de semilla. Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario y Calidad de Semilla (LNDFCS).

LA PRENSA, S.A. 2010. No se usa la mejor semilla. (en línea). Managua, NI. Consultado el 03 de Noviembre 2013. Disponible en: edicion.digital@laprensa.com.ni, Guegue.Com - Desarrollo y Hospedaje Web

Luna, C.; Doña, L. 2010. Guía de Producción Artesanal de Semilla de Frijol, Guía para productores. (en línea). Managua, NI. Consultado el 19 de octubre 2013. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos96/manual-produccion-artesanal-semilla-maiz/manual-produccion-artesanal-semilla-maiz.shtml>

MAGFOR (Ministerio Agropecuario y Forestal, NI). PROGRAMA NACIONAL FORTALECIMIENTO AL SISTEMA NACIONAL DE SEMILLA. EVALUACION SOCIAL DE TERRITORIOS. 2009. Ampliación proyecto de Tecnología Agropecuaria II. Componente I: Innovación y Adopción de Tecnología agrícola y Forestal, Sub-Componente 1.3, Producción de Semilla y Certificación. MAGFOR. 68p.

Martínez E. de la P, Cantillo, P., García, T, D. 2014. Hongos asociados a semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas en Cuba. *Biocología Vegetal* 14, (2). Habana, CU. Consultado en noviembre de 2018. Disponible en <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/55/442>

Mederos, Y.; Reynaldo I.M. 2007. Determinación de indicadores de calidad en 11 genotipos de la especie *Phaseolus vulgaris*, L. *Cultivos Tropicales*, vol. 28 (4): p. 51-56. CU. Consultado el 28-10-2018. Recuperado en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193217894007>

Ministerio de Economía (MINECO) (Ed.); Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACYT) (Ed.); Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC) (Ed.); Secretaría de Industria y Comercio (SIC) (Ed.), Ministerio de Economía Industria y Comercio (MEIC) (Ed.), 2010. Autor. San Salvador, El Salvador. 22p.

- Montoya, E. C. N., Castaño, Z. J. 2011. Eficacia del tratamiento de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la erradicación de microorganismos. Fitopatología Colombiana, 35 (1). 4p. Consultado en noviembre de 2018. Autores. Disponible en [Eficacia%20de%20Tmto%20de%20semilla%20de%20frijol.pdf](#).
- Morales C. M., Valdés H. R., y Pozo. V. E. (marzo 2008). Preferencia de Zabrotes subfasciatus Boheman (Coleoptera; Bruchidae) por granos almacenados: Introducción. Centro Agrícola 35(1). P 35-40 Recuperado de http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V35-Numero_1/cag071081588.pdf
- Morillas, A. (2007). Muestreo en poblaciones finitas. Sin editorial. Pp 16 -20. Sin Ciudad de publicación. Consultado Abril de 2014. Disponible en: <https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjpkdeUjZfMAhXGmh4KHUTPBg8QFgggMAE&url=http%3A%2F%2Fwebpersonal.uma.es%2F~morillas%2Fmuestreo.pdf&usg=AFQjCNG9wjbT-mLUrOtDVwfp49v4kzmsw&sig2=WMzMfupRTI8FxXSVyqLyRw&bvm=bv.119745492,d.dmo>
- Reglas Memorias de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas. 1996. Ciencia y Tecnología de Semillas. 241p (Vol. 24).
- Schaad, N. W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. PS. E.E.U.U. P 36.
- Temas de Ciencia y Tecnología, 2009. La antracnosis y la mancha angular del frijol común (*Phaseolus vulgaris* l.). Recuperado de: http://www.utm.mx/edi_antiores/Temas39/2NOTAS%2039-3.pdf.

VIII.ANEXOS

Anexo I. Definiciones:

Aislamiento: separación en tiempo, distancia o barrera física, establecidos en un reglamento técnico, por la cual una fuente semillera se aparta de individuos u otras fuentes no deseables para evitar su contaminación.

Categoría de semillas: es la generación mediante la cual se identifica la fase de reproducción o multiplicación de una semilla sujeta a certificación y que responde a determinados estándares de calidad.

Estándares de campo: parámetros de calidad fijados en un programa de certificación, a través de un reglamento técnico, que deben cumplir los campos o áreas de reproducción de semilla.

Estándares de laboratorio: parámetros de calidad fijados en un programa de certificación de semillas, que debe alcanzar una muestra representativa de un lote de semilla, establecidos a través de un reglamento técnico.

Germinación: emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla, de aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla que se está ensayando, indican la capacidad para desarrollarse en planta normal bajo condiciones favorables en el suelo.

Humedad de la semilla: contenido de agua en la semilla, generalmente expresado en porcentaje (%).

Lote de semilla: cantidad específica de semillas, físicamente identificable, respecto del cual se puede emitir un certificado oficial de análisis de calidad.

Malezas comunes: son todas aquellas que compiten con el cultivo por espacio, agua, luz, nutrientes, pero que son de fácil control en campo y eliminación durante el acondicionamiento de la semilla del cultivo en cuestión.

Malezas nocivas: son plantas indeseables que presentan características inconvenientes que dificultan su erradicación una vez establecidas en una zona, o que interfieren en las prácticas agronómicas normales del cultivo, o sirven como hospederas de plagas o enfermedades, o que su hábito de crecimiento afecte el desarrollo normal del cultivo y que son de difícil eliminación en campo o durante el proceso de acondicionamiento.

Materia inerte: son fragmentos de semilla, estructuras no definidas como semilla pura y toda otra materia denominada como tal por ISTA.

Muestra: cantidad de semilla representativa de un lote, que se obtiene mediante la combinación y mezcla de submuestras tomadas al azar de diferentes puntos del lote.

Otras semillas: son semillas o pseudo semillas de cualquier especie vegetal distinta a la semilla pura.

Plaga: son patógenos o forma de vida animal o vegetal potencialmente dañina para plantas en general y sus productos.

Plantas fuera de tipo: son plantas de la misma variedad que se está reproduciendo, o de otra variedad, que se diferencian del cultivar en la expresión de una o más características morfológicas o fisiológicas como: pigmentación, pubescencia en tallos y hojas, color, forma, tamaño de flores y sus partes, color, tamaño del fruto y semilla o características de maduración, macollamiento, esterilidad masculina u otros.

Semilla certificada: primera generación de la semilla Registrada o de una categoría superior y que cumple con los estándares establecidos para esta categoría en el presente reglamento.

Semilla de fundación o básica: primera generación obtenida a partir de la siembra de la semilla genética, madre o de la básica y que cumple con los estándares establecidos para esta categoría en el presente reglamento.

Semilla genética o madre: semilla original de un cultivar o variedad, resultante del proceso de mejoramiento genético, que permanece bajo el control del fitomejorador y que constituye la fuente inicial para la producción de semilla básica o de fundación.

Semilla pura: son las semillas de especies encontradas como predominantes en el análisis, incluyendo todas las variedades botánicas y cultivares de dichas especies. Incluye todas las denominaciones brindadas por la ISTA.

Semilla registrada: primera generación obtenida a partir de la siembra de la semilla de Fundación o Básica y que cumple con los estándares establecidos para esta categoría en el presente reglamento.

Semilla: toda estructura vegetal destinada a la reproducción sexual o multiplicación asexual de una especie, tales como semilla botánica, esquejes, estacas, injertos-patrones, yemas, bulbos, rizomas, tubérculos, in vitro y otros.

Semillas de otros cultivos: aquellas semillas de especies cultivadas diferentes a la que es objeto de análisis o certificación.

Variedad: conjunto de individuos botánicos cultivados que se definen e identifican por determinados caracteres genéticos, morfológicos, fisiológicos, citológicos, químicos, u otros y que mantiene su homogeneidad y estabilidad al reproducirse o multiplicarse.

Anexo 2. Fórmulas para el cálculo del tamaño de la muestra a partir de poblaciones finitas

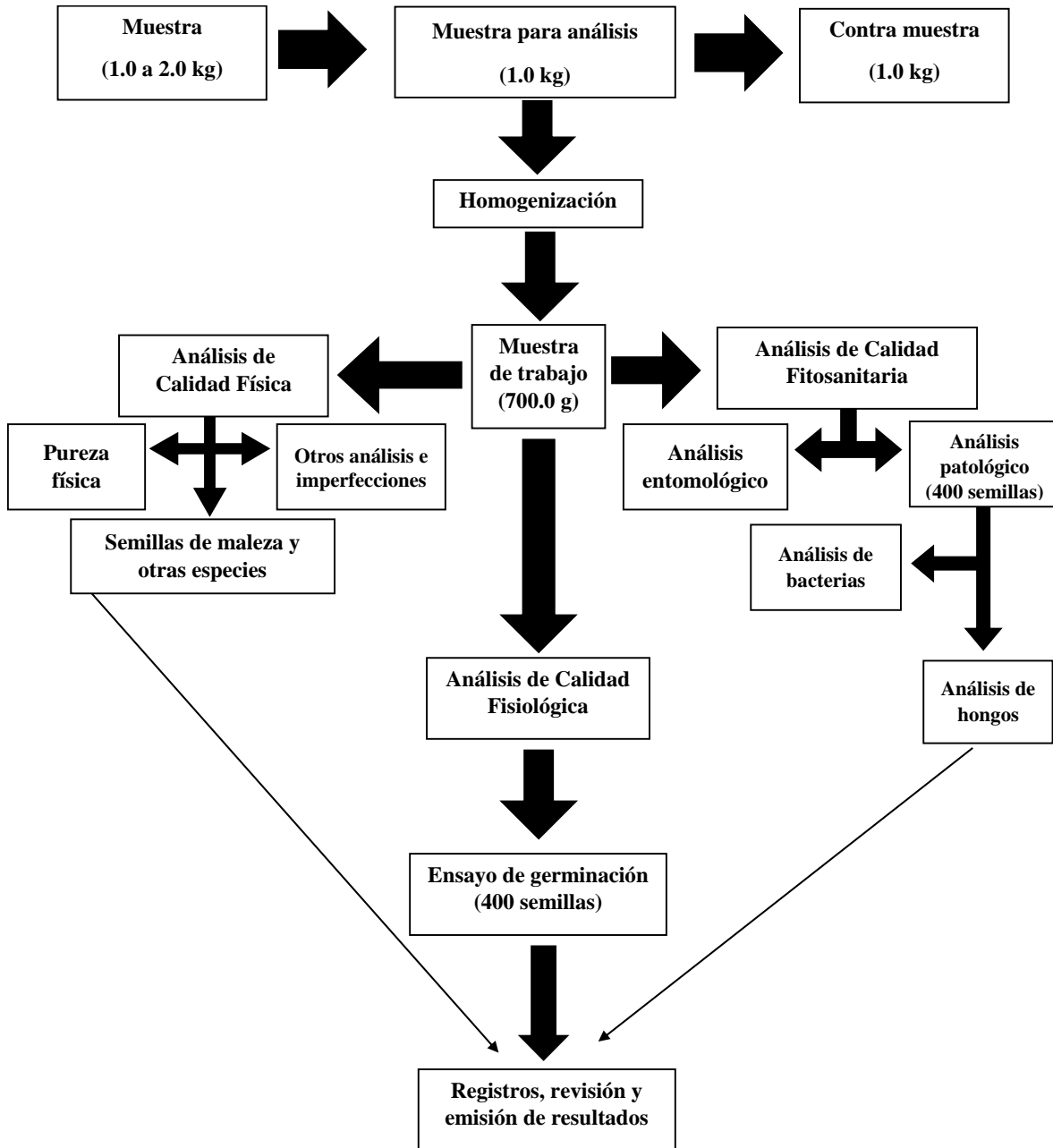
Si la población es finita, es decir conocemos el total de la población y deseásemos saber cuántos del total tendremos que estudiar la respuesta sería:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$


Según diferentes seguridades el coeficiente de Z_{α} varia, así:

- Si la seguridad Z_{α} fuese del 90% el coeficiente sería 1.645
- Si la seguridad Z_{α} fuese del 95% el coeficiente sería 1.96
- Si la seguridad Z_{α} fuese del 97.5% el coeficiente sería 2.24
- Si la seguridad Z_{α} fuese del 99% el coeficiente sería 2.576

Anexo 3. Diagrama del flujo de las actividades realizadas durante el desarrollo del estudio



Anexo 4. Remisión de muestras de semilla para análisis



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional
¡Que Pueblo, Partidario!



MAGFOR
MINISTERIO AGRICOLA Y FORESTAL

N° 1909

REMISION DE MUESTRAS DE SEMILLAS PARA ANALISIS

Fecha del recibo: 28-10-2013 Entero: _____

Fecha de toma de muestra: 24/10/13 No. de muestras: 1 del cultivo de Frijol, I. Cárdenas

Se solicita análisis de:

Germinación Primer Cortejo Otras Variedades No. semilla / libra
 Pureza Viabilidad Humedad Otro: _____

Semilla remida con tratamiento químico: SI NO
 Semilla Nacional Semilla Importada
 Materia Prima Producto Terminado

Fecha de cosecha: Sept. 2013 Fecha de almacenamiento: Sept. 2013

Bodega de Almacenamiento: _____ Procedencia: Kau C. Alto, Estelí

Productor	Cultivo	Cultivar	Categoría	Lote / estiba	Quintales	No. de Entrada
	Frijol	INTA CÁRDENAS	CATIK	01195410C	139.65	150

OBSERVACIONES / RECOMENDACIONES: Sevilla del productor en las bodegas de la planta de arroz en Estelí. Del ciclo de Primavera 2013, cosechada en Sept 2013. Esta es un 1º Muestra.

NOMBRE Y FIRMA DEL INSPECTOR: _____

NOMBRE Y FIRMA DEL RECEPTOR: _____
24-10-13 8:50 AM

C/ Certificación de Semillas Arroz: arroz@arroz.mil.com - Teléfono: 2222-6686 - 1508(2) del 0001 - 0.500 Has./20



Dirección General de Protección y Sanidad Agropecuaria
Departamento de Semillas
Área de Certificación de Semillas
Dirección: Km. 3 1/4 carretera a Masaya. Teléfonos: 2270-3414
2270-1109. Web: www.dgpa.gub.ni

Anexo 5.Hoja de remisión de muestras al LNDFCS, FT 5.17.0.5

HOJA DE REMISION DE MUESTRAS AL LNDFCS

I. Datos Generales

Fecha y hora de recolección de muestra: 12-03-17 a las 9:30 am Recepcionista de muestra: _____
 Fecha y hora de colección de muestra: 11-03-17 a las 3:00 pm Colector de muestra: _____
 Tipo de Usuario: CV X PN _____ SV _____ Otros: _____ Teléfono: _____ Email: _____

Condiciones físicas de la muestra:

Se ACEPTA:	<input checked="" type="checkbox"/>	Se RECHAZA:	<input type="checkbox"/>
------------	-------------------------------------	-------------	--------------------------

Note: La muestra se acepta si cumple con las características declaradas en el FT. 5.17, en caso contrario se rechaza

II. Procedencia de la muestra

Lugar de origen/procedencia	Municipio	Comunidad	Ferza	Latitud	Longitud	Altitud	Area Total	Area afectada	
Neves Segovia	Doolal	Sta. Mercedes	Los Terreros						
A.R	<u>12345</u>	P.I	<u>12345</u>	R.O.C	<u>12345</u>	Placa	<u>506-1231</u>	Puesto	<u>Ferzas Blancas, Neves</u>

III. Detalle de la muestra

M ²	Designación/Producción	Codigo Agrícola	Cultivo (Monza/Guafiro)	Variedad	Cantidad/Tamaño/Peso de la muestra	Análisis sensorial												No de Lote (Etiqu)	Peso en lote (Quintales/kg)	Observaciones
						Color de Semilla						Favorecidos								
						Comercio	Color Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde			
1	SAGSA-Diego CV-054	CV-054	Maz	MS-0	1.8 kg	X						X	X	X			150-1295-12355			
2	SAGSA-Diego CV-006	CV-006	Maz	MS-0	1.8 kg	X						X	X	X			150-1295-12357			
3																				
4																				
5																				
6																				
7																				
8																				
9																				
10																				
Total de análisis						2						2								

C. Tipo de muestra y Organó afectado (Sanidad Vegetal)

Hoja	<input type="checkbox"/>	Stela	<input type="checkbox"/>	Tubérculo	<input type="checkbox"/>	Rizoma	<input type="checkbox"/>	Flor	<input type="checkbox"/>
Tallo/Rama	<input type="checkbox"/>	Glomo	<input type="checkbox"/>	Stela	<input type="checkbox"/>	Fruto	<input type="checkbox"/>	Corno	<input type="checkbox"/>
Semilla	<input type="checkbox"/>	Mal	<input type="checkbox"/>	Hoja	<input type="checkbox"/>	Bulbo	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>

D. Síntomas generales (Marque con una X), según el caso

Marchitamiento	<input type="checkbox"/>	Clorosis	<input type="checkbox"/>	Necrosis	<input type="checkbox"/>	Rizoma	<input type="checkbox"/>	Flor	<input type="checkbox"/>
Marchitamiento	<input type="checkbox"/>	Distorsión	<input type="checkbox"/>	Podredumbre	<input type="checkbox"/>	Fruto	<input type="checkbox"/>	Corno	<input type="checkbox"/>
Colorido anormal	<input type="checkbox"/>	Miedo	<input type="checkbox"/>	Marchitamiento	<input type="checkbox"/>	Bulbo	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>

E. Organó Afectado:

Hoja	<input type="checkbox"/>	Stela	<input type="checkbox"/>	Semilla	<input type="checkbox"/>
Planta	<input type="checkbox"/>	Tubérculo	<input type="checkbox"/>	Otro (especificar)	<input type="checkbox"/>
Tallo/Rama	<input type="checkbox"/>	Corno	<input type="checkbox"/>		

PI 5.17.0.5

En 13 X Car. San Juan de los Rios, 2 N Km al noroeste. Tel: 3381380 al 88 ext: 130, 131, 132 y 134
 Prohibida la reproducción total o parcial del Documento. Derechos reservados por el Instituto de Producción y Sanidad Agropecuaria (IPSA) CI.

Anexo 6.Homogeneizadores de semillas, utilizados en el LNDFCS.



Anexo 7.Medidor de humedad electrónico, Dickey John



Anexo 8.Fórmula para determinar la pureza física

$$\% = \frac{\text{Peso de la semilla (pura, materia inerte y otras especies) en gramos}}{\text{Peso de la muestra de trabajo (700.0 g)}} * 100\%$$

Anexo 9.Porcentaje de semilla manchada, daño por insecto, daño mecánico.

$$Xa = \frac{\text{Peso de la semilla (manchada o daño por insecto o daño mecánico)}}{\text{Peso de la muestra de trabajo (700.0 g)}} * 100 \%$$

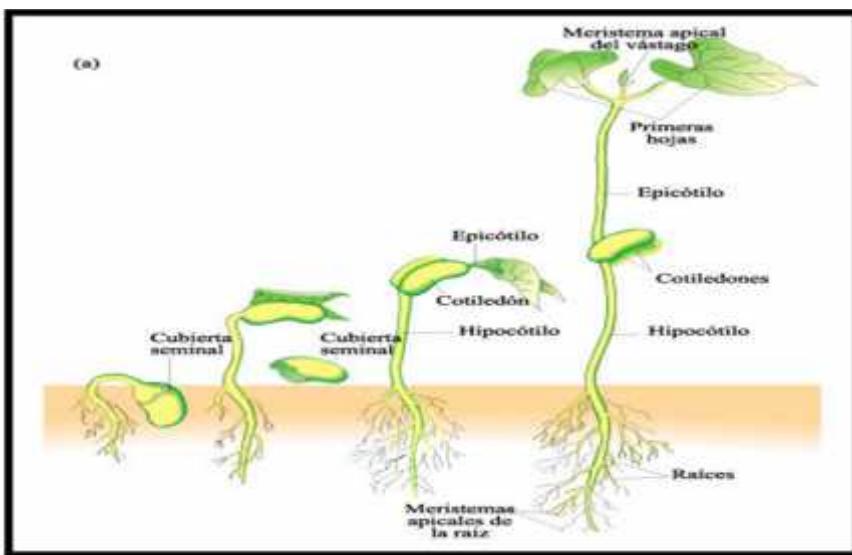
Anexo 10.Numero de semillas por kilogramo

$$Xb = \frac{\text{Numero de semillas en la muestra de trabajo}}{\text{Peso de la muestra de trabajo (700.0 g)}} * 1000 \text{ g}$$

Anexo 11. Invernadero, Mesas de concreto, de 106 por 138 cm., para ensayos de germinación entre arena.



Anexo 12. Estructuras de una plántula de frijol, con germinación epigea

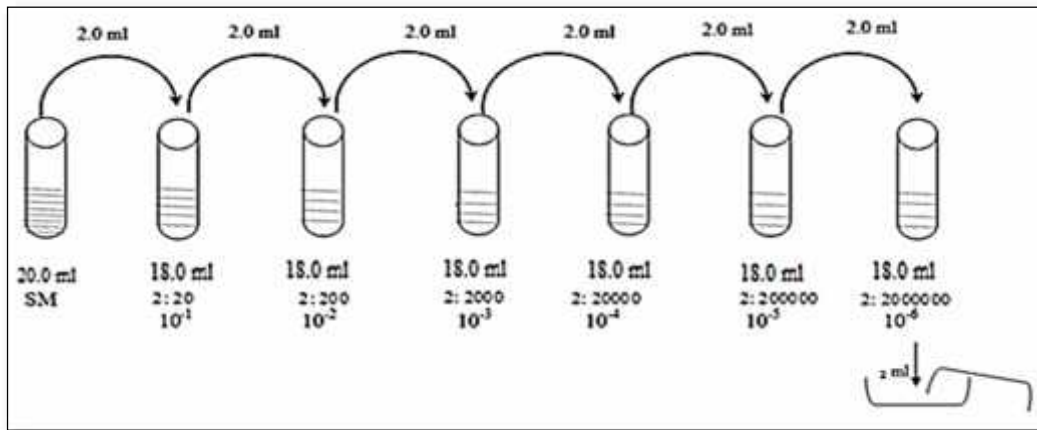


Anexo 13. Plántulas de frijol en invernadero del LNDFCS de IPISA.



- a. Vista general de las plántulas en sustrato arena
- a. Comparación entre plántulas Anormales y Normales en una muestra de frijol INTA Cárdenas, categoría certificada

Anexo 14. Diagrama de diluciones en serie (Lehmann, 1987; Schröder, 1980)



Anexo 15. Esquema de pruebas bioquímicas para identificación de bacterias fitopatógenas.

El patógeno es aeróbico, Gram positivo, con en forma de bastón corto.



Con esta prueba determinamos la presencia de enzimas oxidas presentes en *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Aeromonas*...

Las colonias crecen en medio extracto de levadura de apariencia suave a semi líquido.

Fundamento:
La enzima citocromo oxidasa en presencia de oxígeno oxida el reactivo (*fenilendiamina oxidasa*) formando un compuesto coloreado llamado indófenol.

Técnica de la tira reactiva.

Sobre una tira reactiva impregnada en reactivo (*para oxígeno N dimetil anilina*) depositamos 2 ó 3 colonias objeto de estudio.

Observar si la zona impregnada vira a un color azul - violeta, en cuyo caso la reacción será **Positiva**

Ancexo 16. Medios de cultivos utilizados para identificar los microorganismos

Medios generales:

NA (Nutriente Agar):

Aplicar 20.0 g., de AN por cada 1.0 L de agua destilada

PDA (Papa Dextrosa y Agar)

Trozos de papa 250 g

Agar Agar 20 g

Dextrosa 20 g

Agua destilada 1.0 L

Preparación: Cocer los trozos de papa en 1.0 L de agua destilada por 30 minutos, o cuando el agua comience a hervir, filtrar a través de una gasa, se completa el Litro con agua destilada, luego agregar el Agar Agar y la dextrosa, disolver en Baño María, esterilizar en Autoclave 121° por veinte minutos y verter en placas petri.

Nutrient broth yeast extract (NBY) agar (Vidaver, 1967)

Nutrient broth 8.0 g

Yeast extract 2.0 g

K₂HPO₄ 2.0 g

KH₂PO₄ 0.5 g

Glucose 2.5 g

Agar 15.0 g

Distilled water 1.0 L

Dissolve ingredients and sterilize by autoclaving at 115_C for 20 min.

YDC

Extracto de levadura 10.0 g

Glucosa (Dextrosa)20.0 g

Carbonato de Calcio20.0 g

Agar15.0 g

Agua destilada1.0 L

Preparación: Aplicar todos los ingredientes en 1.0 litro de agua destilada, luego calentar el compuesto en baño María hasta hervir, luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

TZC:

Nutriente Broth8.0 g

Extracto de Levadura2.0 g

K₂HPO₄2.0 g

KH₂PO₄4.5 g

Agar Agar15.0 g

Agua destilada1.0 L

Anexo 17. Corte longitudinal de la semilla de frijol, el cotiledon que contenia el eje embrionario, se sembro en medio ydc



Anexo 18.Registro de resultados de calidad de semillas

REGISTRO DE ANALISIS DE SEMILLAS

Código de la muestra: _____ Cultivo: _____ Variedad: _____
 Productor: _____ Lote: _____ Peso: _____
 Muestra de trabajo (gr.): _____ Semilla pura (gr.): _____ Materia Inerte (gr.): _____
 Fecha de siembra: _____ Fecha de análisis: _____

ANÁLISIS FISIOLÓGICO:							MUESTRA DE TRABAJO PARA ANÁLISIS DE MALEZAS: _____gr.	
GERMINACIÓN							Especies encontradas	Nº de semillas/Kg.
Primer conteo	Plantas normales	Plantas anormales	Semillas muertas	Semillas frescas	Semillas duras	Viabilidad (%)		

OBSERVACIONES:

REGISTRO DE ANALISIS DE SEMILLAS

Código de la muestra: _____ Cultivo: _____ Variedad: _____
 Productor: _____ Lote: _____ Peso: _____
 Muestra de trabajo (gr.): _____ Semilla pura (gr.): _____ Materia Inerte (gr.): _____
 Fecha de siembra: _____ Fecha de análisis: _____

ANÁLISIS FISIOLÓGICO:							MUESTRA DE TRABAJO PARA ANÁLISIS DE MALEZAS: _____gr.	
GERMINACIÓN							Especies encontradas	Nº de semillas/Kg.
Primer conteo	Plantas normales	Plantas anormales	Semillas muertas	Semillas frescas	Semillas duras	Viabilidad (%)		

OBSERVACIONES:

Anexo 19.Resultado de análisis de Calidad de Semillas, FT 5.20.0.2

RESULTADO DE ANALISIS

N° 27061

Fecha de análisis: _____

Código N° _____

DESCRIPCIÓN DEL LOTE

Propietario: _____ Cultivo: _____

Variación: _____ Categoría: _____

Peso de Lote: _____ lote: _____ Contenido de humedad: _____ %

ANÁLISIS FÍSICO

ANÁLISIS FISIOLÓGICO

PUREZA (% en peso)				GERMINACIÓN (% en número de semillas)					%	%	
Semilla Pura	Materia Inerte	Semillas Extrañas		Primer Coteo	PODER GERMINACIÓN (%)					Viabilidad	Valor Cultural
		de plantas cultivadas	de Malezas		Total de Días	Semillas Frescas No germinadas	Semillas Muertas	Plantitas Anormales	Plantitas Normales		

OTROS ANÁLISIS

Semilla manchada % (S/Kg) _____ Semilla Germinada % (S/Kg) _____

Daños por Máquina % (S/Kg) _____ Daño por Insectos % (S/Kg) _____

N° Semilla / Libras: _____ N° Larvas: _____ N° Adultos: _____

Otras Variedades % (S/Kg) _____

MALEZAS NOCIVAS (g/kg)

Nombre Común	Nombre Científico	Unidades/Kg
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

OBSERVACIONES: _____

 JEFE LABORATORIO DE SEMILLAS
 Managua, _____ del mes de _____ 201 _____
 cc 00

RECIBÍ CONFORME

L.A. El Resultado No: 000170150-000 ANP 00000132011-0 O.T. 10000 000 001 (0) N° 35.001 y 35.000 - 040012.

Anexo 20. Parámetros de campo y de laboratorio para las diferentes categorías de frijol, según MINECO (NTON 11 028 - 10/ RTCA 65.05.53:10).

Semilla certificada de frijol

FACTOR	ESTÁNDAR
CAMPO	
Lote o área de producción	6 meses ^{3/}
Plantas fuera de tipo	1/2000
LABORATORIO	
Semillas de otras variedades	6 /kg
Semilla pura (mínimo)	98%
Materia inerte (máximo)	2%
Semillas de malezas nocivas	0
Semillas de otros cultivos	0
Humedad (máximo)	13%
Germinación (mínimo)	80%

Anexo 21. Correlaciones entre variables de calidad física, II semestre 2013

