

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

**FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**



TESIS DE GRADO

**EVALUACION DE LA TOLERANCIA TERMICA EN SEMILLAS DE HABA
(*Vicia faba* L.) Y SU INFLUENCIA EN LA GERMINACION**

Presentado por:

BRIGIDA ROSARIO CARVAJAL NINA

**La Paz - Bolivia
2012**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**

**EVALUACION DE LA TOLERANCIA TERMICA EN SEMILLAS DE HABA (*Vicia faba*
L.) Y SU INFLUENCIA EN LA GERMINACION**

Tesis de Grado presentado como requisito
parcial para optar el Título de Ingeniero Agrónomo

Presentado por:

BRIGIDA ROSARIO CARVAJAL NINA

ASESORES:

Ing. Ph. D. Victor Hugo Mendoza Condori

Tribunales:

Ing. Alejandro Bonifacio Flores

Ing. Félix Mamani Reynoso

Ing. Hugo Bosque Sanchez

Vo, Bo

**La Paz - Bolivia
2012**

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CONTENIDO.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
INDICE DE ANEXOS.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
AGRADECIMIENTOS.....	x
RESUMEN.....	xi
SUMARY.....	xii
I INTRODUCCION	1
1.1 ANTECEDENTES.....	2
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 Objetivo General.....	3
1.2.2 Objetivos específicos.....	3
II REVISION BIBLIOGRAFICA	4
2.1 Cultivo de haba (<i>Vicia faba</i> L.).....	4
2.1.1 Origen y distribución.....	4
2.1.2 Importancia del haba en Bolivia.....	4
2.1.3 Posición Taxonómica.....	6
2.1.4 Características Botánicas.....	6
2.1.4.1 Morfología.....	6
Desarrollo y	
2.1.4.2 Crecimiento.....	7
2.1.5 Condiciones ecológicas.....	7
2.1.5.1 Factores climáticos.....	7
2.1.5.2 Factores edafológicos.....	7
2.2 La semilla.....	8
2.2.1 Elementos estructurales de la semilla.....	8
2.2.1.1 Cobertura protectora	8
2.2.1.2 Eje embrionario.....	9
2.2.1.3 Tejido de reserva.....	10
2.2.2 Atributos de la calidad de semillas.....	10
2.2.2.1 Genéticos.....	11
2.2.2.2 Físicos.....	11
2.2.2.3 Fisiológicos.....	12
2.2.2.4 Sanitarios.....	12
2.2.3 Semilla de Haba.....	13
2.2.4 Clasificación de la semilla de haba.....	14
2.2.5 Normas específicas para la certificación de semillas de haba.....	14
2.3 La germinación.....	15
2.3.1 Proceso de germinación.....	16

2.3.1.1	Disponibilidad de agua.....	17
2.3.1.2	Presencia de gases.....	19
2.3.1.3	Temperatura adecuada.....	20
2.3.1.4	Luz.....	20
2.3.2	Prueba de germinación	20
2.3.2.1	Definiciones.....	20
2.3.2.2	Principios generales.....	23
2.3.2.3	Materiales.....	24
2.3.2.4	Metodología.....	26
2.3.3	Asignación de géneros a categorías y grupos.....	28
2.3.3.1	Criterio de asignación.....	28
2.3.3.2	El desarrollo de las plántulas del tipo G.....	30
2.4	Termoterapia.....	31
2.4.1	Sensibilidad termica.....	32
2.4.2	Tipos de tratamiento.....	32
2.4.2.1	Calor seco.....	32
2.4.2.2	Calor húmedo.....	33
2.4.3	Tratamientos con termoterapia.....	33
III	LOCALIZACIÓN	35
IV	MATERIALES Y METODOS	35
4.1	Materiales.....	35
4.1.1	De laboratorio.....	35
4.1.2	De gabinete.....	35
4.2.3	Vegetal.....	35
4.2	Métodos.....	36
4.2.1	Procedimiento experimental.....	36
4.2.2	Diseño Estadístico.....	38
4.2.2.1	Modelo Lineal Aditivo	39
4.2.2.2	Factores de estudio.....	39
4.2.2.3	Formulación de tratamientos.....	40
4.2.3	Variables de respuesta.....	41
4.2.3.1	Plántulas normales.....	41
4.2.3.2	Plántulas anormales.....	41
4.2.3.3	Semillas latentes.....	42
4.2.3.4	Semillas muertas.....	43
4.2.3.5	Días a la germinación	43
V	RESULTADOS Y DISCUSIONES	44
5.1	Porcentaje de semillas germinadas normales.....	44
5.1.1	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo.....	47
5.1.2	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre.....	49
5.2	Porcentaje de Semillas Germinadas Anormales.....	51
5.2.1	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre.....	53

5.3	Porcentaje de Semillas Latentes.....	54
5.3.1	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo.....	57
5.3.2	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre.....	58
5.3.3	Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre.....	60
5.4	Porcentaje de Semillas Muertas.....	62
5.4.1	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo.....	66
5.4.2	Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre.....	68
5.4.3	Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre.....	69
VI	CONCLUSIONES	71
VII	RECOMENDACIONES	72
VIII	BIBLIOGRAFIA	74
IX	ANEXOS	78

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Superficie cultivada. producción y rendimiento de haba en Bolivia.....	5
Cuadro 2	Clasificación de los calibres de haba seca.....	14
Cuadro 3	Normas de calidad en laboratorio para la semilla del haba.....	15
Cuadro 4	Análisis de varianza para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	44
Cuadro 5	Análisis de efectos simples para la interacción de temperatura y tiempos de inmersión para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	48
Cuadro 6	Análisis de efectos simples para la interacción temperatura por calibre para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	50
Cuadro 7	Análisis de varianza para el porcentaje de semillas germinadas anormales.....	51
Cuadro 8	Análisis de efectos simples para la interacción temperatura por calibre para el porcentaje de semillas germinadas anormales.....	53
Cuadro 9	Análisis de varianza para el porcentaje de semillas latentes.....	55
Cuadro 10	Análisis de efectos simples para la interacción de temperatura y tiempos de inmersión para el porcentaje de semillas latentes.....	57
Cuadro 11	Análisis de efectos simples para la interacción temperatura por calibre para el porcentaje de semillas latentes.....	59
Cuadro 12	Análisis de efectos simples para la interacción tiempo por calibre para el porcentaje de semillas latentes.....	60
Cuadro 13	Análisis de varianza para el porcentaje de semillas muertas.....	62
Cuadro 14	Análisis de efectos simples para la interacción de temperatura y tiempos de inmersión para el porcentaje de semillas muertas.....	66
Cuadro 15	Análisis de efectos simples para la interacción temperatura por calibre para el porcentaje de semillas muertas.....	68
Cuadro 16	Análisis de efectos simples para la interacción tiempo por calibre para el porcentaje de semillas muertas.....	69

INDICE FIGURAS

Figura 1	Fases de la germinacion de la semillas de haba.....	30
Figura 2	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.....	45
Figura 3	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.....	46
Figura 4	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas germinadas normales respecto del calibre de semillas.....	47
Figura 5	Interaccion entre tiempos de inmersion y temperatura de inmersión para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	49
Figura 6	Interaccion entre temperaturas de inmersion y calibres para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	50
Figura 7	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas germinadas anormales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.....	52
Figura 8	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas germinadas anormales respecto del calibre de semillas.....	53
Figura 9	Interaccion entre temperaturas de inmersion y calibres para el porcentaje de semillas germinadas anormales.....	55
Figura 10	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas latentes respecto del calibre de semillas.....	56
Figura 11	Interaccion entre tiempos de inmersion y temperatura de inmersión para el porcentaje de semillas latentes.....	58
Figura 12	Interaccion entre temperaturas de inmersion y calibres para el porcentaje de semillas latentes.....	60
Figura 13	Interaccion entre tiempos de inmersion y calibres para el porcentaje de semillas latentes.....	61
Figura 14	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.....	63
Figura 15	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes tiempos de inmersión.....	64
Figura 16	Comparacion de medias Duncan (5%) para el porcentaje de semillas muertas respecto del calibre de semillas.....	65
Figura 17	Interaccion entre tiempos de inmersion y temperatura de inmersión para el porcentaje de semillas muertas.....	67
Figura 18	Interaccion entre temperaturas de inmersión y calibres para el porcentaje de semillas muertas.....	69
Figura 19	Interaccion entre tiempos de inmersión y calibres para el porcentaje de semillas muertas.....	70

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas germinadas normales.....	78
Anexo 2	Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas germinadas anormales.....	78
Anexo 3	Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas latentes	79
Anexo 4	Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas muertas	79
Anexo 5	Reglas ISTA para la Evaluacion de Plántulas de especies del género Vicia....	80



Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado a:

En primer lugar a Dios por su infinita misericordia para con nosotros.

A mi madre Flora Nina que con su ejemplo, valor y entereza ante las adversidades supo darme las más grandes lecciones de mi vida.

A las luces que iluminan mi vida Nicole, Natalia y Rodrigo.

A mis hermanos Mariela, Alvaro, Juan Carlos y Nancy por su apoyo en todo momento.

A la memoria de Eloy Carvajal este fue un sueño anhelado para él.

Gracias por su apoyo incondicional en todo momento

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a las siguientes personas e Instituciones:

A la Ex Oficina Regional de Semillas (ORS) hoy Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal Departamental La Paz (INIAF), Institución que me brindo todo su apoyo para la realización de la Tesis.

Mis agradecimientos a las autoridades, docentes y personal administrativo de la Facultad de Agronomía UMSA, por haberme colaborado en mi formación profesional.

A la Ingeniera Edith Foronda Montoya, al Ing. Ph. D. Victor Hugo Mendoza Condori quienes tomaron parte de su tiempo y atención para poder elaborar presente documento de Tesis.

A los Ingenieros Juan Carlos Huarcacho, Fredy Mamani, y al Licenciado Miguel Mamani (INIAF) por su colaboración y apoyo.

Y por ultimo un agradecimiento muy especial a todos mis amigos entre Profesionales, Docentes y compañeros, por su apoyo para llevar adelante este trabajo.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de la Oficina Regional de Semillas (ORS) La Paz hoy Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) Departamental La Paz.

El principal objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de la termoterapia en el proceso de germinación de las semillas de haba, utilizando un diseño Completamente al Azar con tres Factores, usando como factores niveles de temperatura, tiempo y calibre de la semilla; las variables de respuesta que se evaluaron fueron: porcentaje de semillas germinadas normales y anormales, porcentaje de semillas latentes y muertas

Una vez clasificada la semilla se procedió a sumergirlas en agua al nivel de temperatura y tiempo determinados para cada tratamiento seguidamente se procedió a la siembra, una vez iniciada la germinación se realizaron dos evaluaciones la primera a los ocho días, la última a los 14 días siguiendo los parámetros señalados por las normas ISTA.

En las semillas germinadas normales se observó que las semillas toleraron hasta los 75°C por 5min logrando el porcentaje mínimo requerido (80%): el calibre primera fue el que mejor respondió a los tratamientos.

En las semillas germinadas anormales se observó que el calibre Extra seguido del calibre Segunda alcanzaron los mayores porcentajes.

Entre las semillas que quedaron latentes el mayor porcentaje se observó a 65°C por 10min, el calibre Extra presentó mayor cantidad de semillas latentes.

Entre las semillas muertas se observó que a 30min se registraron los mayores porcentajes de perdidas por otro lado las semillas toleraron hasta 85°C por 5min pero el porcentaje de germinación alcanzado fue muy bajo (20%), el calibre Extra registró mayores pérdidas, seguido del calibre Segunda.

Bajo este criterio se puede concluir que la temperatura determina el tiempo, que la semilla puede tolerar, al ser tratada con termoterapia, entonces los niveles con mejores respuestas son 65°C por 10min y 75°C por 5min, considerando trabajar con el calibre Primera.

SUMMARY

The present work was carried out at the National Institute of Agricultural Innovations (INIAP) at the estates of the laboratory of Seeds (ORS) La Paz Regional Office (INIAF) Departmental Forrestal La Paz.

The principal objective of this work was to determine the influence of the thermotherapy in the process of germination of the bean seeds, utilizing a design Completely at random with three Factors, using like factors levels of temperature, time and caliber of the seed; The variables of answer that were evaluated matched: Percentage of germinated normal and abnormal seeds, percentage of latent seeds and dead persons

Once the seed was classified he proceeded to immersing oneself in water at the same level as temperature and time determined for each treatment straightaway proceeded itself to planting, once the germination was initiated two evaluations accomplished to the eight days the first, ISTA ends her to the 14 days following the parameters indicated by the standards.

In the germinated normal seeds himself I observe than seeds tolerated to 75 C for 5min achieving the minimal requisite percentage (80 %): The caliber first he was the one that better answered to the treatments.

In the germinated abnormal seeds himself I observe than the Extra caliber followed of the caliber Second they attained the bigger percentages.

Between the seeds that got latent himself I notice that the C for 10min has to 65 the bigger percentage, the Extra caliber I present bigger quantity of latent seeds.

Between the dead seeds himself I notice that the seeds registered to 30min the bigger percentages of losses in addition they tolerated to 85 C for 5min but the percentage of attained germination was very low (20 %), the caliber the fact that I register bigger losses was the Extra followed of the caliber second.

It can be concluded that under this opinion temperature determines the time, than the seed music can tolerate, to the being treated with thermotherapy, the levels with better answers then 65 C for 10min and 75 C for 5min, considering working with the caliber first.

I INTRODUCCION

En Bolivia, el haba constituye una de las fuentes principales de alimentación de la población. Debido a su rusticidad, se constituye en uno de los cultivos mejor adaptados al altiplano y cabeceras de valles; las alturas de la región andina son los únicos lugares de Bolivia donde es posible producir haba de grano grande conocida como habilla (IBTA, 1996).

Debido a que el manejo de haba en vaina es relativamente delicado y la remuneración no es la óptima, algunos productores de haba se han dedicado a producir semilla; con lo cual perciben mejores ingresos.

Si consideramos que la máxima calidad de un lote de semillas depende directamente de las condiciones de producción en el campo (Peske, 2007), en el proceso de la cosecha, el secado y el almacenamiento; la semilla también está expuesta a contraer patógenos, especialmente si consideramos que en nuestro medio, aún no se tienen los medios técnicos adecuadamente desarrollados.

En este marco una de las técnicas de desinfección de semilla, es la termoterapia, que consiste en someter la semilla al calor (que actúa como principal agente de erradicación de los patógenos). Sin embargo se desconoce el nivel de temperatura y tiempo óptimo en el cual la semilla no se ve afectada en su capacidad germinativa. Al utilizar la termoterapia como método de desinfección, se desea brindar una nueva opción al agricultor, para mejorar la calidad en la producción de semilla.

1.1. ANTECEDENTES

El tratamiento de ciertas semillas, bulbos y otros, mediante agua caliente se utiliza para destruir a los patógenos que los infectan o que pudieran contener las cubiertas de las semillas o las escamas de los bulbos. La efectividad de este método de control, se basa en el hecho de que esos órganos vegetativos latentes pueden soportar temperaturas considerables a las que sobreviven durante un cierto tiempo sus patógenos correspondientes.

La temperatura del agua caliente y la duración de su tratamiento, varían de acuerdo a las distintas combinaciones que se establezcan entre el patógeno y su hospedero. Así, en el caso del carbón descubierto del trigo, las semillas se mantienen en agua caliente a 52°C por 11 minutos, mientras que los bulbos tratados por la infección que produce *Ditylenchus dipsaci*, se mantienen a 43°C por tres horas (Agris, 1991).

Experimentos llevados a cabo con huéspedes y sus virus han demostrado que el tratamiento de plantas con temperaturas elevadas (termoterapia) lleva una reducción en la concentración del virus (Hurtado *et al.*, 1987).

Los productores certificados de semilla de haba en el departamento de La Paz, como medida preventiva, sumergen la semilla en agua hirviendo por espacio de dos minutos, antes de la siembra (Saavedra, 2006).

Entre las enfermedades que son causadas por virus se resalta un dato importante que es el punto de inactivación termal (PIT); lo que tomaremos como un parámetro para plantear los tratamientos.

- Mosaico de las hojas del haba (*Virus de mosaico del haba*); PIT 95°C.
- Mosaico y necrosis apical de las hojas del haba, (*Virus del mosaico y necrosis apical de las hojas del haba*); PIT 58°C.
- Mosaico de las hojas y necrosis de la cáscara de semilla de haba, (*Virus del mosaico y coloración de las semillas del haba*); PIT 60 a 65°C.

- Mosaico verdadero del haba, (*Virus del mosaico verdadero del haba*); PIT 65 a 75°C, (Herbas, 1981).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- Determinar la influencia de la termoterapia en el proceso de germinación de semillas de haba

1.2.2 Objetivos Específicos

- Establecer la tolerancia de la semilla a la temperatura
- Determinar el tiempo óptimo que tolera la semilla expuesta a diferentes temperaturas.
- Determinar la capacidad de germinación de la semilla una vez sometida al tratamiento de termoterapia.

II REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Cultivo de haba (*Vicia faba* L.)

2.1.1 Origen y distribución

Según Vavilov, los centros de origen de esta especie, están en el Asia Central y en la región Mediterránea, aunque a Etiopía, una región del Africa Oriental también se la considera como centro independiente de los anteriores (Box, 1961).

El cultivo fue extendiéndose por toda la cuenca Mediterránea, desde el inicio de la agricultura. Los romanos fueron los que seleccionaron el tipo de haba de grano grande y aplanado que es el que actualmente se emplea para consumo en verde, extendiéndose a través de la ruta de la seda hasta China, e introducido en América, tras el descubrimiento del Nuevo Mundo (Infoagro, 2008).

Según Piérola (1997), es una especie originaria del Medio Oriente o más específicamente de la Mesopotámia, con migraciones hacia la cuenca del Mediterráneo, Etiopía, India, Afganistán, China, Europa Central y Norte y migraciones tardías a América del Sur durante el siglo XVI, constituyéndose en un importante centro secundario de diversificación en los países Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador y México.

Estudios moleculares de germoplasma de haba de diverso origen confirman que materiales de la zona andina (Bolivia) y del área circundante al Mar Mediterráneo, difieren en su estructura genética. Es una especie parcialmente alógama (polinización cruzada parcial) y diploide ($2n=2x=12$). Sus cromosomas son más largos y en menor número (*V. faba*=6, otras especies mayormente $n=7$), comparados con otras especies pertenecientes al mismo género (Crespo, 1996).

2.1.2 Importancia del haba en Bolivia

En Bolivia, el haba constituye una de las fuentes principales de alimentación de la población andina rural. Se estima que la superficie cultivada a nivel nacional esta cerca

de 30.200 ha (anual), dedicándose a este cultivo unas 200.0000 familias o unidades productivas (INE, 2005). Las principales áreas de cultivo que se han desarrollado en el país están en los departamentos de Potosí, Oruro, La Paz, Cochabamba, Chuquisaca y en menor medida también existen zonas productoras de haba en los departamentos de Tarija y Santa Cruz.

En la zona andina de Bolivia, el cultivo de haba es el más importante entre las leguminosas; esta importancia radica en diversos factores. Su rol en los sistemas productivos agrícolas (rotación, abono verde, fijador de nitrógeno y otros); insumo alimenticio del ganado; fuente proteica en la alimentación de la familia productora; fuente de ingresos por su venta en mercados de consumo interno de haba verde y seca y externo de haba seca (Balderrama *et al.*, 2001).

El haba, un tradicional alimento, conquista un creciente prestigio internacional por sus extraordinarias propiedades nutritivas y constituye un producto de exportación altamente prometedor para Bolivia. Por otro lado se ha comenzado a incrementar la exportación de habas, en la gestión 2006 Bolivia exportó 848.268 dólares americanos y hasta septiembre de 2007 ha exportado 873.042 dólares americanos, con destinos principales como: Italia, Estados Unidos, Japón, Portugal, y Francia según orden de importancia (IBCE, 2007).

Según el INE (2004), se tiene el siguiente comportamiento en la superficie cultivada, producción y rendimiento en Bolivia.

Cuadro 1 Superficie cultivada, producción y rendimiento de haba en Bolivia

Año Agrícola	Superficie (Ha)	Producción (TM)	Rendimiento (Kg / Ha)
1999 – 2000	33805	65197	1229
2000 – 2001	33646	65846	1957
2001 – 2002	33190	59959	1807
2002 – 2003 (p)	33200	59231	1784
2003 – 2004 (p)	32484	58068	1788

FUENTE: Ministerio de Agricultura y Ganadería (2004) ELABORACION: Muller Asociados

2.1.3 Posición Taxonómica

La posición taxonómica de esta especie es la siguiente:

Subreino:	<i>Fanerogamas</i>
División:	<i>Magnoliophyta (Angiosperma)</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida (Dicotiledoneas)</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>
Subfamilia:	<i>Papilionideae</i>
Tribu:	<i>Vicieae</i>
Género:	<i>Vicia</i>
Especie:	<i>Vicia faba</i> L.
Nombre común:	Haba

(Waaijenberg, 1996).

2.1.4 Características Botánicas

2.1.4.1 Morfología

Según el MACA (2005), el haba se caracteriza por ser una planta de ciclo anual y de porte recto, que presenta:

- Sistema radicular muy desarrollado, donde se encuentran nódulos que contienen bacterias fijadoras de nitrógeno.
- Tallos, de coloración verde, fuertes angulosos y huecos, ramificados hasta 1.5 metros de altura.
- Hojas, alternas compuestas paripinadas, con folíolos anchos ovales y redondeados de color verde y desprovisto de zarcillos.
- Flores, axilares, agrupadas en racimos de dos a ocho flores y poseen una mancha grande de color negro o violeta en las alas.

- Fruto, legumbre (vaina) de longitud variable, pudiendo alcanzar 35 cm. El número de granos por vaina oscila entre dos a nueve.

2.1.4.2 Desarrollo y crecimiento

De acuerdo a Crespo (1996), la germinación en el haba es hipogea, su duración es variable (12 a 15 días), dependiendo principalmente de la temperatura y humedad del suelo. Cumple su ciclo vital de seis a nueve meses y fructifica en un solo periodo, pero en tres etapas continuas diferenciadas y de acuerdo a los segmentos de la planta. Primero florece y fructifica el tercio inferior (vainas barejas), seguidamente florece el segundo tercio, que constituye el más importante y significativo para la producción, finalmente lo hace el tercio superior quedando las vainas generalmente pequeñas. Las últimas flores a veces no desarrollan bien formando vainas “vanas”.

El ciclo vegetativo de ésta especie es muy variable, las condiciones climáticas del lugar del cultivo y la variedad botánica a la que pertenecen los cultivares son los factores más determinantes

2.1.5 Condiciones ecológicas

2.1.5.1 Factores climáticos

Según Crespo (1996), es una especie anual adaptada muy bien a los climas de regiones frías, templadas y semi-templadas con pluviosidades elevadas. En Bolivia, el haba se cultiva en una amplia gama de ambientes que oscilan desde los valles mesotérmicos (2000 msnm) hasta las mesetas alto andinas del altiplano (3800 msnm). La presencia de heladas cuando las plantas son muy pequeñas o están germinando, puede causar la muerte de los tejidos apicales, sin embargo tiene la capacidad de rebrotar y continuar con su desarrollo vegetativo.

2.1.5.2 Factores edafológicos

El haba tolera muy bien diversos tipos de suelos, aunque prospera mejor en suelos sueltos y ricos en materia orgánica. Se adapta a un margen amplio de pH entre 5 y 8, el óptimo es 6.5 (Jansen, 1989; citado por Crespo 1996).

2.2 La semilla

La importancia de las semillas en el complejo proceso productivo de la agricultura actual es indiscutible, reconociéndose su rol fundamental como elemento básico de la cadena de producción agrícola del mundo. Es importante recalcar que las semillas son estructuras vivas, las cuales se hallan expuestas a las transformaciones fisiológicas de su naturaleza biológica (Hebblethwaite, 1983).

2.2.1 Elementos estructurales de la semilla

La semilla, por definición botánica es el resultado de la fertilización y maduración del óvulo.

Según Otero (2007), los elementos básicos de la estructura de una semilla son: tegumento, embrión y tejido de reserva. Desde el punto de vista funcional, la semilla está compuesta por una cobertura protectora, un eje embrionario y un tejido de reserva predominante. La cobertura protectora es formada a partir de uno o de ambos integumentos que circundan el óvulo. El embrión es el resultado del desarrollo del cigoto, el endospermo de la fusión de los núcleos polares con el núcleo espermático.

2.2.1.1 Cobertura protectora

La cobertura protectora es la estructura extrema que delimita la semilla. El embrión y los tejidos de reserva están recubiertos por esta estructura, que los protege contra daños y evita lixiviaciones. Puede ser constituida solamente del tegumento y en algunos casos también del pericarpio y tiene su origen de los integumentos ovulares. En general está formada por dos capas, una externa, la testa o cáscara y la otra interna, el tégmen, que son originadas a partir de la planta madre, de los integumentos ovulares.

El pericarpio es una estructura presente en varias especies de semillas. Es constituido de seis o siete capas de células de textura esponjosa, que tienen su origen en las células parenquimatosas parcialmente destruidas de la pared del ovario. Las células de la capa más próxima al tegumento tienen los formatos de cruz y de tubos y son perpendiculares

unas a las otras, en función de eso, tienen importancia en la constitución del tejido fibroso del pericarpio.

En algunos casos el pericarpio está tan fuertemente adherido al tegumento que forma una estructura denominada cariósida, común en varias gramíneas; en otros, no está adherido al tegumento y forma otra estructura, denominada aquenio, como en las semillas de girasol y zanahoria.

Las funciones de la cobertura protectora son:

- a) Mantener unidas las partes internas de la semilla.
- b) Proteger contra choques y abrasiones.
- c) Servir como barrera a la entrada de microorganismos.
- d) Regular la velocidad de rehidratación, de intercambio gaseoso de la semilla y la germinación, causando inclusive la dormancia en algunas especies.

En resumen, la cobertura tiene funciones protectoras, reguladoras y delimitantes.

2.2.1.2 Eje embrionario

El eje embrionario tiene función reproductiva, capaz de iniciar divisiones celulares y de crecer. Es un eje porque inicia su crecimiento en dos direcciones; raíces y parte aérea. El eje en general es pequeño con relación al tamaño de la semilla.

Un embrión bien formado generalmente consiste en un eje que en su extremo superior tiene uno (monocotiledóneas), dos (dicotiledóneas) o más (la mayoría de las coníferas) cotiledones, termina en la plúmula, yema apical que puede estar envuelta por las primeras hojas en aquellos embriones altamente diferenciados y en el extremo inferior del eje está la radícula, raíz embrionaria con su extremo recubierto por una capa de células protectoras de coleoriza.

El embrión de las monocotiledóneas está localizado en la parte ventral de la cariósida. Antes de germinar, el embrión contiene el primordio de una raíz seminal, los primordios de tres hojas, dos nudos (cotiledonar y escutelar), el escutelo y el mesocotilo (situado entre el nudo cotiledonar y el escutelo).

2.2.1.3 Tejido de reserva

El embrión de la semilla madura está frecuentemente recubierto por un tejido especial de almacenamiento. Según la especie, las reservas de las semillas pueden localizarse en los cotiledones, en el endospermo, o en el perispermo.

El tejido de reserva es la fuente de energía y de sustancias orgánicas para la elaboración de nuevas paredes celulares, citoplasma y núcleos, desde el inicio de la germinación hasta que la planta se vuelve autotrófica. El desarrollo del eje embrionario depende de la energía y sustancias almacenadas en estos tejidos.

El tejido de reserva actúa como reservorio y como proveedor de compuestos orgánicos en formas simples que pueden ser usados por el eje embrionario. En el momento en que el embrión está completamente desarrollado en la semilla, el endospermo bien ha desaparecido o se ha transformado en un tejido de almacenamiento para las reservas de alimento de la semilla.

En muchas especies de semillas entretanto, las reservas se almacenan en los cotiledones. Los cotiledones se originan del propio cigoto y hacen parte del embrión. El embrión se desarrolla bastante, absorbiendo todo el endospermo y acumulando sustancias de reserva en los cotiledones, que se presentan voluminosos.

El endospermo puede estar constituido de un tejido sin sustancias de reserva, cuando es utilizado parcial o totalmente para el desarrollo del embrión, o se puede diferenciar como el principal tejido de reserva.

Durante el desarrollo del endospermo algunos nutrientes son retirados de los tejidos cercanos, otros son sintetizados *in situ*, a partir de materiales transportados hasta allí.

2.2.2 Atributos de la calidad de semillas

Según Peske (2007), pueden ser divididos en genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios.

2.2.2.1 Genéticos

La calidad genética involucra, entre otras, características de pureza varietal, potencial de productividad, resistencia a plagas y enfermedades, precocidad, calidad el grano y resistencia a condiciones adversas de suelo y clima. Esas características son en alto grado influenciadas por el medio ambiente y son identificadas examinando el desarrollo de las plantas en el campo.

Una serie de medidas deben ser tomadas para evitar las contaminaciones genéticas y/o varietales. Por contaminación genética se entiende aquella resultante del intercambio de granos de polen entre variedades diferentes: por contaminación varietal aquella resultante de la mezcla de semillas de diferentes variedades.

2.2.2.2 Físicos

- a. **Pureza física.** Es una característica que refleja la composición física o mecánica de un lote de semillas. A través de este atributo se tiene la información del grado de contaminación del lote, con semillas de plantas dañinas, de otras variedades y la cantidad de material inerte.
- b. **Humedad.** El contenido de humedad de las semillas es la cantidad de agua contenida en ellas, expresada en porcentaje en función de su peso húmedo. La humedad ejerce una gran influencia sobre el desempeño de las semillas en varias situaciones: El punto de cosecha para la mayoría de las especies es determinado en función del contenido de humedad de la semilla. También afecta la actividad metabólica de las semillas en los procesos de germinación y deterioración.
- c. **Daños mecánicos.** Cada vez que la semilla es manejada está sujeta a daños mecánicos, está determinada por el grado de humedad su forma y el tamaño. Lo ideal sería cosecharla y beneficiarla manualmente. Además de propiciar un mal aspecto al

lote de semillas, también afectan su calidad fisiológica, que puede manifestarse inmediatamente o después de algunos meses de almacenamiento.

- d. **Peso volumétrico.** Es el peso de un determinado volumen de semillas. Es una característica que refleja el grado de desarrollo de la semilla. Esta influenciado por el tamaño, forma, densidad y contenido de humedad de las semillas.

2.2.2.3 Fisiológicos

Se considera como atributo fisiológico aquel en que el metabolismo de la semilla está involucrado para expresar su potencial de desarrollo.

- a. **Germinación.** En tecnología de semillas, la germinación es definida como la emergencia y el desarrollo de las estructuras esenciales del embrión manifestando su capacidad para dar origen a una plántula normal, sobre condiciones ambientales favorables.
- b. **Dormancia.** Es el estado en que una semilla viva se encuentra cuando se le dan todas las condiciones adecuadas para su germinación, y la misma no germina. es una protección natural de la planta para que la especie no se extinga en condiciones adversas (humedad, temperatura). Existe un término involucrado tanto en las semillas dormantes como aquellas que germinan en condiciones adecuadas, denominado viabilidad, que representa la suma de las semillas dormantes y de las que germinarán en un análisis padrón de germinación.
- c. **Vigor.** Es el resultado de la conjugación de todos aquellos atributos de la semilla que permite la obtención de un stand en condiciones de campo (favorable y desfavorable). Los resultados de la prueba de germinación frecuentemente no se reproducen a nivel de campo, pues en el suelo las condiciones raramente son óptimas para la germinación de las semillas.

2.2.2.4 Sanitarios

Las semillas utilizadas para la propagación deben ser sanas y libres de patógenos. Semillas infectadas con enfermedades pueden presentar viabilidad baja o ser de bajo vigor. Las semillas en general son excelentes vehículos para la distribución y diseminación de patógenos.

2.2.3 Semilla de Haba

La semilla de haba está compuesta por la testa, los cotiledones y el eje embrionario, en el punto en que se conecta a la vaina a través del funículo, existe una cicatriz que corresponde al hilum. Prácticamente junto a uno de los extremos del hilum se presenta el micrópilo, a través del cual ingresa agua a la semilla en los estados tempranos de germinación. Los cotiledones, por su parte, protegen al eje embrionario y lo proveen de nutrientes durante la germinación y el establecimiento (Infoagro, 2008).

Según Crespo (1996), las semillas son de forma ovalada, de superficie lisa, opaca y brillante, de coloración muy variada que va desde colores oscuros hasta los claros, así el color puede ser negro, rojo, verde, morado, pardo, grisáceo, blanco-cremoso o blanco; también pueden ser jaspeados o de dos colores.

El tamaño de las semillas varía desde pequeño con un largo de 1.6cm. En la subespecie mayor. Exteriormente el tegumento presenta varias partes o apéndices que sirven para reconocer las especies, entre ellas el hilio o cicatriz dejada en la semilla por la separación del funículo; que es opaco, ovalado o lineal y generalmente de color negro. El tegumento es impermeable (duro) y es un factor importante para la conservación de la vitalidad.

2.2.4 Clasificación de la semilla de haba

La clasificación según la norma NB 317001-2 del Instituto Boliviano de Normas de Calidad (IBNORCA) para legumbres, hortalizas y habas secas, establece los requisitos que deben cumplir en la producción y comercialización del grano seco de haba. La norma dispone que la clasificación por su peso considere un número de habas por onza, estableciendo los siguientes calibres:

Calibre	menor a 9	granos por onza	Extra
Calibre	9 – 11	granos por onza	Primera
Calibre	11 – 13	granos por onza	Segunda
Calibre	13 – 15	granos por onza	Tercera
Calibre	15 – 17	granos por onza	Cuarta
Calibre	mayor a 17	granos por onza	Quinta

También norma las condiciones de calidad en lo referido a: uniformidad, color, contenido de humedad, materias extrañas y sanidad (ORS, 2005).

Las normas de calidad del haba de exportación se basan principalmente en el tamaño de los granos correlacionados con el peso, a lo cual se ha determinado calibre: En el cuadro se detalla las categorías respectivas:

Cuadro 2 Clasificación de los calibres de haba seca

Calidad (calibre)	N° de granos por onza (28.7 gramos)	Peso del grano (gramos)
Extra	Menos de 9	Mayor a 2.8
Primera	9 a 11	2.8
Segunda	11 a 13	2.3
Tercera	13 a 17	1.9
Cuarta	17 a 24	1.4

FUENTE: IBTA – PNGL, (1996)

2.2.5 Normas específicas para la certificación de semillas de haba

El sistema de certificación de semillas participa dentro del programa como apoyo al cumplimiento de la ley si es realizado por una agencia del gobierno. El control de calidad en la producción de semilla es de dos clases: Control interno, lo realiza el semillerista,

durante la producción en el terreno; Control externo, lo realiza la ORS (Oficina Regional de Semilla).

El control externo de calidad es un conjunto de medidas tendientes a verificar la calidad de las semillas bajo certificación. Consiste de parcela de control y análisis de calidad del material básico; inspecciones oficiales de campo durante la producción, técnicas de muestreo; análisis de laboratorio para germinación, pureza y sanidad, parcelas de pos-control (Peske, 2007).

De acuerdo a la ORS (2001), para cumplir con los requisitos de certificación, la semilla de haba deberá cumplir con los siguientes límites de tolerancia exigidos en laboratorio:

Cuadro 3. Normas de calidad en laboratorio para la semilla del haba

Determinaciones	Categorías		
	Básica	Registrada	Certificada
Pureza Física % mínimo	98	98	98
Materia Inerte % máximo	2	2	2
Semilla de otras variedades y/o atípicas	1:1000	2:1000	5:1000
Semillas de otro cultivos máximo /kg.	0	0	1
Semillas de malezas prohibidas máximo /kg	0	0	0
Semillas de malezas comunes máximo /kg.	0	0	0
Humedad % máximo	13	13	13
Germinación % mínimo	-	-	80

Fuente: Oficina regional de semillas ORS,(2001).

(-) no se establece un mínimo de germinación por ser categorías para multiplicaciones posteriores. Por otro lado se establece dos generaciones de la categoría básica, una de registrada y la única generación de certificada.

2.3 La germinación

La germinación de una semilla en una prueba de germinación, es el desarrollo de la plántula a un estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no capaz de tener un posterior desarrollo satisfactorio en planta, sobre condiciones de suelo.

Entre tanto algunos fisiologistas definen la germinación, como el reinicio del crecimiento del embrión paralizado en la fase final de la maduración (Marino y Rodríguez, 1975).

En un ensayo de laboratorio se define la germinación como la emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla, de aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla que se ésta ensayando indican la capacidad para desarrollarse en planta normal bajo condiciones favorables en el suelo (ISTA, 2003).

2.3.1 Proceso de germinación

Según Lisakowski (2007), la semilla madura y seca, en el estado de quiescencia (repose seminal), se caracteriza por su bajísimo nivel en las actividades metabólicas. La germinación de la semilla involucra la superación y el reinicio del crecimiento del embrión, o sea, el proceso que conduce para la dormancia es revertido.

Para que ocurra la germinación tres eventos son fundamentales:

- a) Rehidratación
- b) Reactivación de las organelas celulares y macromoléculas
- c) Metabolismo de sustancias de reserva

La transcripción de genes y la síntesis de proteína son re-iniciadas y el metabolismo intermedio aumentan drásticamente. En otras palabras, la germinación es la transformación del embrión en una plántula.

Durante el proceso de desarrollo del embrión en plántula, una serie de reacciones de degradación y síntesis, así como crecimiento y diferenciación de tejidos, son observadas, siendo el agua el agente activador de todos estos procesos. La germinación es, entonces, el reinicio del crecimiento del embrión, paralizado en las fases de la madurez. (Otero,2007)

Desde el punto de vista fisiológico le germinación comprende cuatro fases:

- a) absorción de agua
- b) Alargamiento de las células
- c) División celular
- d) Diferenciación de las células en tejidos.

Desde el punto de vista Físico-bioquímico se consideran:

- a) Rehidratación
- b) Aumento de la respiración
- c) Síntesis de enzimas o activación de enzimas pre-existentes
- d) Digestión enzimática de las reservas
- e) Movilización y transporte de reservas
- f) Asimilación metabólica
- g) Crecimiento y diferenciación de los tejidos

Para que el proceso de germinación se desarrolle satisfactoriamente, algunos requisitos son necesarios:

- a) Que la semilla sea viable (que este viva)
- b) Disponibilidad de agua
- c) Presencia de gases (oxígeno)
- d) Temperatura adecuada
- e) Luz
- f) Semilla no dormante

A seguir veremos detalladamente la importancia de cada una de ellos.

2.3.1.1 Disponibilidad de agua

Se refiere al agua que llega al embrión, por lo tanto, ya en el interior de la semilla. Los estadios iniciales de la absorción de agua por las semillas son cruciales para la germinación. Las semillas son sensibles a la rápida rehidratación, frío y falta de oxígeno. La rehidratación es el evento llave que mueve la semilla de un estado de reposo (o

quiescente) para reasumir el crecimiento del embrión. Consecuentemente, ocurre una transición ordenada de aumento de la hidratación, activación de enzimas, quiebra de productos almacenados y reinicio del desenvolvimiento del embrión.

La primera condición para la germinación de una semilla viable y no dormante es la disponibilidad de agua para su rehidratación. La gran mayoría de las células de la epidermis poseen una pared celular relativamente gruesa y altamente lignificada, es a través de las células de la cobertura protectora que gran parte del agua penetra en la semilla. Esa absorción, sin embargo, no ocurre de una manera uniforme en toda la superficie de la misma.

La imbibición de agua por la semilla, es realizada a través de procesos físicos y ocurre básicamente en tres fases: la primera caracterizada por una rápida absorción, la segunda, cuando poco agua es absorbida, permaneciendo prácticamente constante su concentración en la semilla y la tercera donde un segundo periodo de rápida absorción es verificado, coincidiendo con el crecimiento del embrión.

- a. **Fase I** La imbibición es larga en función del alto potencial matricial de la semilla y la absorción de agua ocurre independientemente de que la semilla sea dormante o no, viva o muerta. Ocurre un aumento en el consumo de oxígeno atribuido, en parte, a la hidratación de enzimas mitocondriales. La respiración durante esa fase, aumenta linealmente con el grado de hidratación del tejido.
- b. **Fase II** Esa fase es conocida como “fase de reposo”, donde el potencial matricial no tiene más importancia y la semilla está en equilibrio con el medio externo. El potencial de agua de la semilla en esta fase es, básicamente, el balance del potencial osmótico y del potencial de presión. Esta fase también es caracterizada por la estabilización en la absorción de oxígeno. La hidratación, de todas las partes de la semilla está completada, como también las enzimas preexistentes están activadas.

c. **Fase III** Solo las semillas vivas y no dormantes entran en esta fase. El nuevo pique o impulso que se verifica en la absorción de agua y también de oxígeno en esta fase, está relacionado con la emisión de la radícula y la formación de nuevos tejidos.

Factores como: composición de la semilla; permeabilidad del tegumento y temperatura, afectan la entrada de agua en la semilla y por lo tanto su acceso al embrión.

- La imbibición en la semilla, como ya vimos anteriormente, depende principalmente de su potencial matricial, que a su vez, está relacionado con la composición de la misma. Algunas sustancias tienen un poder mayor de atraer agua que otras; entre éstas se incluyen: proteínas, sustancias pépticas, hemicelulosa, ácidos nucleicos, mucílagos.
- El efecto de la permeabilidad del tegumento en la imbibición es claro y evidente, mientras que el efecto de la temperatura es muy pequeño, porque se trata de un proceso biológico y no físico, por eso la temperatura tiene poca influencia.
- La velocidad de imbibición puede tener efecto sobre el establecimiento del cultivo

Después de la absorción de agua, los primeros eventos del proceso de germinación son:

1. Hidratación de enzimas de diferentes categorías: metabólicas y sintetizadoras de RNA y proteínas
2. Formación de polisomas a partir del mRNA pre-existentes.
3. Activación de enzimas pre-existentes
4. Síntesis de nuevos mRNA y proteínas.
5. síntesis de enzimas hidrolíticas y proteolíticas relacionadas con la degradación de los carbohidratos y proteínas.

Ese último evento básicamente, estará dando soporte al proceso de germinación. Por lo tanto el embrión posee toda la “maquinaria” necesaria para promover la extrusión de la radícula y de la parte aérea, las sustancias de reserva (principalmente carbohidratos y proteínas) contribuirán, fundamentalmente, para su crecimiento.

2.3.1.2 Presencia de gases

El agua en exceso puede restringir la disponibilidad de oxígeno y consecuentemente reducir o retrasar la germinación.

Para la mayoría de las especies, concentraciones de dióxido de carbono mayores que las registradas normalmente en la atmósfera (300ppm) afectan negativamente la germinación de sus semillas

2.3.1.3 Temperatura adecuada

Las semillas de cada especie y probablemente de cada variedad dentro de una misma especie, tienen una temperatura mínima una temperatura máxima y una temperatura óptima para germinar

2.3.1.4 Luz

Las semillas de la mayoría de las especies cultivadas germinan tanto en la oscuridad, como en la presencia de luz. La exigencia de luz para la germinación de algunas especies, según varios trabajos de investigación está relacionada a un tipo de dormancia.

La germinación de las semillas de algunas especies puede ser promovida por la luz blanca. El mecanismo de este fotocontrol está asociado a determinados largos de onda de luz con el pigmento llamado fitocromo. El fitocromo es una proteína que puede existir en dos formas, que son convertibles de un estado de energía a otro.

2.3.2 Prueba de germinación

El objetivo de la prueba de germinación es determinar el potencial máximo de germinación de un lote de semillas, el cual puede ser usado para comparar la calidad de diferentes lotes y también para estimar el valor para fines de siembra (Otero, 2007).

Según las reglas ISTA (2003), se deben seguir los siguientes parámetros para llevar a cabo una prueba de germinación:

2.3.2.1 Definiciones

- a. Porcentaje de germinación** El porcentaje de germinación que se refleja en el Certificado de análisis indica la proporción de número de las semillas que han producido plántulas clasificadas como normales bajo las condiciones y dentro del periodo especificado para cada especie.
- b. Plántulas normales** las plántulas normales deberán estar de acuerdo con una de las siguientes definiciones:
- i. Plántulas que manifiestan la capacidad para continuar su desarrollo hacia plantas normales, cuando crecen en suelo de buena calidad, y bajo condiciones favorables de agua, temperatura y luz.
 - ii. Plántulas que poseen todas las estructuras esenciales siguientes cuando se ensayan en substrato artificial:
 - Un sistema radicular bien desarrollado que incluya una raíz primaria, excepto para aquellas plantas que producen normalmente raíces seminales.
 - Un hipocotilo bien desarrollado e intacto y/o un epicotilo sin lesiones en los tejidos conductores y, en las dicotiledóneas, una plúmula normal.
 - Un cotiledón para plántulas monocotiledóneas y dos cotiledones para plántulas dicotiledóneas.
 - iii. Plántulas con los ligeros defectos siguientes, con tal que manifiesten un desarrollo vigoroso y equilibrado de las otras estructuras esenciales:
 - Plántulas de *Zea*, todas las especies de *Malvaceae*, y *Cucurbitaceae* y leguminosas de semillas grandes con la raíz primaria dañada, pero con varias raíces adventicias y laterales de suficiente longitud y vigor como para satisfacer las necesidades de la plántula en el suelo.

- Plántulas superficialmente dañadas o podridas a nivel de los órganos esenciales, pero en extensión limitada y sin que afecte a los tejidos conductores.
 - Plántulas de dicotiledónea con un solo cotiledón.
- iv. Plántulas seriamente podridas por hongos o bacterias, pero solamente si es evidente que la semilla de la cual proceden no es el foco de infección y se puede determinar que todas las estructuras esenciales están presentes.

c. Plántulas Anormales

Plántulas anormales son aquellas que no manifiestan capacidad para continuar su desarrollo hacia plantas normales cuando crecen en un suelo de buena calidad, y bajo condiciones favorables de agua, temperatura y luz.

Se clasificaran como anormales, las plántulas con los defectos siguientes, cuando se ensayan sobre un substrato artificial:

- i. **Plántulas dañadas:** Plántulas sin cotiledones; plántulas con constricciones; plántulas con hendiduras, grietas o lesiones de las estructuras esenciales las cuales no son superficiales ni limitadas en extensión; plántulas sin raíz primaria para aquellas especies en que la raíz primaria es una estructura esencial, excepto para leguminosas de semilla grande, *Zea*, y todas las especies de *Malvaceae*, y *Cucurbitaceae* ; cuando se hayan desarrollado varias raíces adventicias y laterales lo suficiente como para satisfacer las necesidades de la plántula en el suelo.
- ii. **Plántulas deformadas:** Plántulas con un desarrollo de las estructuras esenciales, débil o desequilibrado, tales como plúmulas, hipocotilos o epicotilos retorcidos en espiral o atrofiados; brotes hinchados y raíces atrofiadas; plúmulas con hendiduras, coleoptilos

sin hojas primarias; plántulas acuosas y vítreas o en las que el desarrollo se ha detenido posteriormente a la aparición de los cotiledones.

- iii. **Plántulas podridas:** Plántulas con alguna de las estructuras esenciales afectada por enfermedad o podrida hasta tal punto que se impida el desarrollo normal, excepto cuando sea evidente que el foco de infección no es la semilla de la cual procede.

d. Semillas duras

Se clasifican como semillas duras las semillas de *Leguminosae* y *Malvaceae*, que permanecen duras al finalizar el periodo de ensayo prescrito, por no haber absorbido agua a causa de la impermeabilidad de su tegumento.

e. Semillas frescas no germinadas

Se clasifican como semillas frescas no germinadas, las semillas, distintas de las semillas duras, que permanecen cerradas y aparentemente viables, incluso después de un tratamiento apropiado para interrumpir la latencia de acuerdo con el anexo correspondiente.

f. Semillas muertas

Se clasifican como semillas muertas, las semillas que no han producido gérmenes al finalizar el periodo de ensayo prescrito y que no son duras ni frescas.

2.3.2.2 Principios generales

Los ensayos de germinación deberán efectuarse con semillas de la fracción de semilla pura procedente del análisis de pureza. Las semillas no deberán recibir ningún pre tratamiento.

Las semillas, distribuidas en repeticiones, se colocarán en el interior o sobre el sustrato, y se mantendrán a un nivel de humedad favorable bajo las condiciones de temperatura y luz indicadas para cada especie. Al término del periodo prescrito, las repeticiones se examinarán y se harán conteos de las semillas y plántulas clasificándolas en las diferentes categorías previstas para la indicación de los resultados. Se puede hacer un primer conteo, así como conteos intermedios en un estado más precoz, con tal que se cumplan las prescripciones (ISTA, 2003).

2.3.2.3 Materiales

Lisakowski (2007), señala que los materiales a utilizarse en la prueba de germinación deben ser cuidadosamente seleccionados en función de la especie, para llevar a cabalidad el objetivo del análisis.

a. Substrato

Para escoger el sustrato se considera el tamaño de las semillas, la exigencia en cuanto a humedad, la sensibilidad o no a la luz y la facilidad para el desarrollo de las plántulas hasta el estado apropiado para la evaluación correcta de la prueba. Los tipos de sustratos más comúnmente usados son: papel (papel toalla, papel poroso y papel filtro), tejido de algodón, arena y suelo.

- i. **Papel toalla.** Empleado en forma de rollo (BP), es el más indicado para especies de semillas como soja, maíz, frijol, arroz y avena, variando su tamaño de acuerdo con el tamaño de las semillas.
- ii. **Papel poroso.** Utilizado para especies de semillas de tamaños menores como las de forrajeras y hortalizas. La designación de TP (sobre papel) y BP (entre papel)

indicada por las Reglas de Análisis de Semillas está directamente relacionada con las especies más o menos sensibles a la luz, respectivamente.

- iii. **Papel filtro.** Es el menos utilizado en las pruebas comunes de germinación. Se emplea para semillas de forrajeras, hortalizas y algunas forestales y/u ornamentales pequeñas.

Lo importante en estos tipos de sustratos es que deben ser exentos de sustancias tóxicas solubles en agua, de hongos y bacterias que puedan interferir en la germinación, presentar poder de absorción y retención de agua adecuada e índice de pH de 6.0 a 7.5. Su estructura debe ser tal, que las raíces se desarrollen sobre y no a través de su superficie.

- iv. **Arena.** Debe ser exenta de sustancias tóxicas y de microorganismos, previamente lavada, esterilizada y cribada (pasada por cribas con orificios de 0.8 mm de diámetro y quedar retenida en otra de 0.05mm). Este sustrato es utilizado para semillas grandes cuando la semilla está infectada y algunas veces con propósitos investigativos, y para confirmar la evaluación en caso de duda. Debe presentar pH 6.5 a 7.0, ser lavada y esterilizada antes de su re utilización.
- v. **Suelo.** Este sustrato debe ser de buena calidad, no compacto y libre de partículas grandes. Debe estar libre de semillas malezas, bacterias, hongos, nematodos o sustancias tóxicas que puedan interferir la germinación de la semilla, el crecimiento de las plántulas o la evaluación de las mismas. Este método es recomendado cuando las plántulas demuestran síntomas fitotóxicos o cuando siembras en papel o arena, son cuestionados.

b. **Agua**

El agua utilizada en la prueba de germinación debe ser libre de impurezas orgánicas e inorgánicas y presentar un pH de 6.0 a 7.5. Puede ser utilizada agua destilada o desionizada.

c. **Origen de la semilla**

Son utilizadas 400 semillas tomadas al azar de la porción de semillas puras del análisis de pureza física, sembradas en 4 repeticiones de 100, 8 de 50 o 16 de 25. El número de repeticiones depende de la especie en examen y del tamaño de las semillas versus el tamaño del sustrato.

d. **Germinadores**

Los germinadores más utilizados en la gran mayoría de los laboratorios son:

- i. **Germinador de cámara.** Compuesto de una cámara de paredes dobles adecuadamente aisladas para disminuir las variaciones bruscas de la temperatura interna, y un conjunto de bandejas. Su fondo sirve como depósito para agua destilada que debe ser mantenida a nivel adecuado ya que proporciona la humedad relativa interna de 90 a 95%.
- ii. **Germinador de sala.** Su principio de construcción y funcionamiento puede ser semejante a los del tipo cámara, difiriendo apenas en su dimensión pues permite inclusive la entrada de personas. Las muestras son colocadas en estantes laterales a lo largo de un pasillo central y además del sistema de control de temperatura y luz, es equipado con un sistema de ventilación y de humidificadores proporcionando así, uniformización de temperaturas y una humedad relativa interna elevada.

e. **Condiciones sanitarias**

Los substratos y todos los utensilios usados en la prueba de germinación deben ser conservados rigurosamente limpios y libres de contaminación. Los substratos deben ser guardados en lugar seco, aireado y protegido del polvo. Utensilios como cajas plásticas y recipientes usados para las pruebas de suelo y arena deben ser cuidadosamente lavados con agua y jabón (Marino y Rodríguez, 1975).

2.3.2.4 Metodología

La metodología de la prueba de germinación ha sido desarrollada bajo condiciones controladas para lograr una germinación completa, rápida y regular para la mayoría de las especies. Es decir que las condiciones en las cuales debe ejecutarse la prueba son padronizadas para lograr resultados parecidos, cuando son ejecutados en diferentes laboratorios, pudiendo existir diferencias mínimas dadas por el uso de diferentes muestras (Marino y Rodríguez, 1975).

a. Muestra de trabajo

La semilla pura se mezclará bien y se contarán 400 semillas al azar en repeticiones de 100, 50 ó 25 semillas. Las semillas se distribuirán uniformemente sobre el substrato húmedo, bastante separadas las unas de las otras para evitar, en la medida de lo posible, que se toquen entre sí antes de que se cuenten y retiren.

b. Siembra

Las semillas, distribuidas en repeticiones, se colocarán en el interior o sobre el substrato, se mantendrán a un nivel de humedad favorable bajo las condiciones de temperatura y luz indicadas para cada especie. Al término del periodo prescrito las repeticiones se examinarán y se harán conteos de las semillas y plántulas clasificándolas en las diferentes categorías previstas para la indicación de los resultados. Se puede hacer un primer conteo, así como conteos intermedios en un estado más precoz, con tal que se cumplan las prescripciones.

c. Duración del ensayo

La duración del ensayo está determinada por el tiempo prescrito, pero el periodo de refrigeración requerido para interrumpir la latencia, no está incluido en esta duración, bien sea dado antes o durante el ensayo.

Si al finalizar el tiempo prescrito algunas semillas comenzarán a germinar, el ensayo se puede prolongar durante un periodo adicional de siete días. Se puede terminar un ensayo antes del tiempo prescrito cuando el analista tiene la certeza de que se ha obtenido la germinación máxima de la muestra. El tiempo indicado para el primer conteo es aproximado, pero ha de ser suficiente como para permitir una valoración real de las plántulas; en caso contrario, se deberá suprimir el primer conteo.

A juicio del analista se pueden efectuar conteos intermedios con el fin de retirar las plántulas que han alcanzado un desarrollo suficiente que permita su valoración para evitar que se entrelacen. Sin embargo deberá reducirse al mínimo el número de conteos intermedios para impedir el riesgo de que se produzcan lesiones en las plántulas que no estén suficientemente desarrolladas.

d. Valoración

Cada plántula se valorará de acuerdo con los principios generales prescritos. Para ello el estado de desarrollo de los órganos esenciales deberá ser el suficiente como para poder detectar cualquier plántula anormal.

En especies en que las estructuras esenciales están aún cerradas al finalizar el ensayo, puede ser necesario levantar el tegumento y separar los cotiledones con el fin de examinar la plúmula.

2.3.3 Asignación de géneros a categorías y grupos

Según las reglas ISTA se toman los siguientes criterios:

2.3.3.1 Criterio de asignación

En este manual los géneros han sido clasificados dentro de dos categorías:

- Planta agrícola y hortícola: representados por la letra **A**
- Arboles y arbustos: representados por la letra **B**

Categorías A y B son entonces sub-divididos dentro de grupos de acuerdo al siguiente criterio:

Clase sistemática	<ol style="list-style-type: none">1. Monocotiledóneas2. Dicotiledóneas3. Coníferas
Modo de germinación	<ol style="list-style-type: none">1. Germinación epigea2. Germinación hipogea
Desarrollo del rebrote	<ol style="list-style-type: none">1. Sin crecimiento del epicótilo2. Con crecimiento del epicótilo3. Ningún alargamiento del rebrote encerrado dentro de una vaina (coleóptilo)4. hipocótilo tuberoso
Sistema de la raíz y su importancia para la evaluación	<ol style="list-style-type: none">1. Raíz primaria esencial2. Raíces secundarias pueden compensar a la raíz primaria3. Varias e iguales raíces secundarias

De esta manera, cualquier género puede ser asignado al grupo que cubre su sistemática y característica morfológica. Además, podrían formarse grupos adicionales usando este sistema si es requerido.

Entonces se reconocen 14 “Grupos de Plántulas”

Categoría A

Tipo de plántula	Grupo de plántula	Género representativo
Tipo A	A - 1 - 1 - 1 - 1	<i>Allium</i>
Tipo B	A - 1 - 2 - 1 - 1	<i>Freesia</i>
Tipo C	A - 1 - 2 - 2 - 1	<i>Asparagus</i>
Tipo D	A - 1 - 2 - 3 - 1	<i>Lolium</i>
	A - 1 - 2 - 3 - 2	<i>Oriza, Zae, Sorgum</i>
	A - 1 - 2 - 3 - 2	<i>Hordeum, Secale, Triticum</i>
Tipo E	A - 2 - 1 - 1 - 1	<i>Brassica, Beta, Daucus</i>
	A - 2 - 1 - 1 - 2	<i>Cucumis, Gossypium</i>
	A - 2 - 1 - 4 - 3	<i>Cyclamen</i>
Tipo F	A - 2 - 1 - 2 - 2	<i>Arachis, Phaseolus</i>
Tipo G	A - 2 - 2 - 2 - 2	<i>Pisum, Vicia</i>

Categoría B

Tipo de plántula	Grupo de plántula	Género representativo
Tipo E	B - 2 - 1 - 1 - 2	<i>Robinia</i>
Tipo G	B - 2 - 2 - 2 - 2	<i>Quercus</i>
Tipo H	B - 3 - 1 - 1 - 1	<i>Abies, Pinus</i>

2.3.3.2 El desarrollo de las plántulas del tipo G

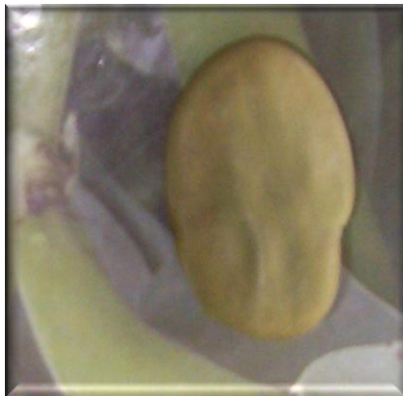
Plántula tipo G: comprenden plántulas DICOTILEDONEAS con germinación HIPOGEA. La parte de la plántula que crece hacia la luz y cambia a VERDE es el EPICOTILO con las HOJAS PRIMARIAS.

a. Género representativo: *Pisum, Vicia*

El embrión en la semilla madura es bien diferenciado, con un claro eje embrionario que tiene una radícula en uno de los extremos y una plúmula en el otro. Más o menos llenos formando hojas primarias y encerrando al meristemo de la plántula. Los cotiledones están ligados al eje del embrión y encerados en ellos. Ellos generalmente llenan la cubierta de la semilla.

Al inicio de la germinación, la raíz primaria perfora la cubierta de la semilla; rápidamente crece y establece la plántula en el suelo. Al mismo tiempo el epicótilo crece. Una pequeña curvatura es formada y está facilitada su paso a través del suelo. Si el epicótilo no crece, los cotiledones con la cubierta de la semilla se queda en el suelo.

En la luz el epicótilo engruesa. La hoja primaria (o par de hojas) cambian a verde, expandiéndose e iniciando la fotosíntesis.



Semilla



Desarrollo de la radícula

Desarrollo de la plántula, 14 días después de la siembra →



Figura 1. Fases de la germinación de la semilla de haba

2.4 Termoterapia

La termoterapia es un tratamiento físico donde el calor es el principal agente de erradicación de los patógenos. Este método, aunque eficiente y promisorio en el control de determinados microorganismos, es objeto de mayores estudios, una vez que su eficiencia está directamente relacionada con la capacidad que tienen los organismos vegetales de soportar altas temperaturas por un determinado periodo de tiempo. En ese caso, cuanto mayor la diferencia entre la sensibilidad térmica del hospedero y del patógeno, mayores serán las posibilidades de éxito (Lucca y Pierobom, 2007).

La termoterapia consiste en la aplicación de altas temperaturas a las plantas completas o a partes aisladas. Algunos virus son más estables que otros y esto causa diversos problemas en su erradicación, por lo que se necesitan periodos más largos para unos y más cortos para otros con diferentes tratamientos. Algunas especies son dañadas por las altas temperaturas por lo que se recomienda una alternancia de temperaturas altas y bajas (Hurtado *et al.*, 1994).

2.4.1 Sensibilidad térmica

La sensibilidad térmica es afectada por varios factores, entre ellos el grado de humedad, el nivel de dormancia, la edad y el vigor, las condiciones del tegumento (pericarpio), condiciones de temperatura durante el desarrollo de la planta, el tamaño del material a ser tratado y de la propia susceptibilidad varietal. La relación temperatura-tiempo no puede ser aplicada de forma generalizada para todas las situaciones. Debe ser determinada experimentalmente, escogiéndose la temperatura letal más baja para el patógeno y en el menor tiempo de exposición (Lucca y Pierobom, 2007).

El calor puede ser hecho de dos maneras distintas, Una es a través de la intensa y corta exposición, generalmente utilizada para la erradicación de los microorganismos y la otra a través de una mínima intensidad y larga exposición al calor, la cual es utilizada para reducir la concentración del patógeno en la planta, generalmente asociada al cultivo de meristemas.

2.4.2 Tipos de tratamiento

Existen diferentes maneras de efectuar la termoterapia, las más difundidas son:

2.4.2.1 Calor Seco

Es una técnica que causa pocos daños a las semillas ya que no hay derramamiento de sustancias ni daños en el tegumento ni en las membranas, en función de una rápida imbibición de agua por la misma.

En esta técnica las semillas son colocadas en estufas o secadores y calentadas a altas temperaturas (75 a 95°C) por un periodo de cinco a ocho días. Se recomienda un secado previo de las mismas a una temperatura de 45°C por 24 horas, bajando el contenido de humedad para 13%, y así minimizar el efecto de la temperatura sobre la calidad fisiológica de las semillas.

2.4.2.2 Calor húmedo

En este método las semillas son expuestas a la acción del vapor de agua o son directamente inmersas en agua caliente.

- a. **Vapor caliente:** Esta técnica prevé una pre-hidratación de las semillas con posterior exposición del vapor con temperaturas de 50 a 60 °C por 30 minutos, seguida de rápido enfriamiento.

Esta técnica es más simple y más eficiente que el tratamiento en agua caliente, siempre que haya un control riguroso de la temperatura y del tiempo de exposición de las semillas a la acción del vapor. Se debe cuidar la humedad para que la masa de semillas alcancen la temperatura deseada en un máximo de 2 minutos y la diferencia de temperatura entre el vapor de entrada y de salida no sea superior a 1.4 °C.

- b. **Agua caliente:** las semillas son pre-calentadas a través de inmersión por 10 minutos en agua 5°C debajo de la temperatura de tratamiento, después son transferidas para

la temperatura deseada por un periodo pre-determinado (50°C/20min.). Se hace necesario observar la relación entre el agua y semilla (5:1), además de que el agua debe estar siempre en movimiento para propiciar un contacto máximo de agua con la semilla. Inmediatamente después del tratamiento, las semillas deben ser enfriadas en agua y secadas a 32°C bajo ventilación forzada.

2.4.3 Tratamientos con termoterapia

La termoterapia es una técnica promisoriosa para el tratamiento de semillas, especialmente de olerícolas y ornamentales, donde el volumen de semillas a ser tratada no es muy grande, facilitando la aplicación de forma automatizada.

Experimentos llevados a cabo con huéspedes y sus virus han demostrado que el tratamiento de plantas con temperaturas elevadas (termoterapia) lleva una reducción en la concentración del virus. Entre estas explicaciones, está la de la competencia entre las células del huésped que se encuentran en proceso de rápida división y, las partículas del virus por lugares de síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, lo cual puede llevar a un cambio en el balance entre la síntesis y la degradación de las partículas del virus.

La otra explicación es del ácido nucleico del virus, portador de su información genética, este está protegido del ataque de enzimas degradantes por una cubierta compuesta de muchas subunidades de proteínas. A altas temperaturas, la unión entre estas subunidades se vuelve más débil, se pueden abrir aberturas temporales, y permitir el ataque de las nucleasas, lo que inactiva los virus y disminuye la concentración del mismo (Andrada, 1997).

Se conoce que la exposición a temperaturas elevadas, es una técnica utilizada principalmente para eliminar virus o micoplasmas, aprovechando la mayor termo estabilidad del hospedador en relación con la del patógeno.

III LOCALIZACIÓN

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de la Ex Oficina Regional de Semillas (ORS-La Paz) hoy Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal Departamental La Paz (INIAF), ubicado, en la avenida Busch # 1370, Zona Miraflores

IV MATERIALES Y METODOS

4.1 Materiales

4.1.1 De laboratorio

- Hornilla
- Termómetro
- Vasos de precipitado
- Piseta
- Pinzas
- Agua

- Bandejas
- Arena
- Cámara Germinadora
- Autoclave

4.1.2 De gabinete

- Libreta de apuntes, calculadora y papel.

4.1.3 Vegetal

- Semilla de haba (Ecotipo Gigante de Copacabana), perteneciente a la categoría certificada B, se utilizó los calibres Extra, Primera y Segunda.

4.2 Métodos

4.2.1 Procedimiento experimental

Para llevar a cabo el experimento se procedió a combinar tiempos y temperaturas de inmersión de la semilla, de la siguiente manera.

a. Muestra de trabajo

- Se procedió a reunir la semilla del Ecotipo Gigante de Copacabana que pertenece a la categoría certificada B.
- Las semillas fueron clasificadas según calibre.



Calibre Extra
Menos de 9 granos/onza
Mayor a 2.8 g /grano

Calibre Primera
De 9 a 11 granos /onza
 \leq a 2.8 g /grano

Calibre Segunda
De 11 a 13 granos/onza
 \leq a 2.3 g /grano

b. Desinfección de materiales

- Se procedió a esterilizar el sustrato (arena) en autoclave por espacio de 15 minutos a una presión de una atmósfera, a una temperatura de 121 °C.
- Se esterilizó los envases cuidadosamente con un desinfectante de amplio espectro (DG6).
- De igual manera se esterilizó la cámara germinadora y las bandejas.

c. Aplicación de tratamientos

- Se calentó agua a baño maria hasta alcanzar la temperatura requerida para cada tratamiento.
- Una vez alcanzada la temperatura, se procedió a sumergir la semilla (en bolsas de algodón), controlando la temperatura con un termómetro y agregando agua fría (con una piseta) para evitar que suba la temperatura.
- Cumplido el tiempo requerido por tratamiento, se retiró la semilla y se la colocó en envases para que enfríe a temperatura ambiente.

d. Siembra

- Se colocó un espesor de cinco centímetros de sustrato (arena) en cada bandeja de plástico.
- Posterior a ello se sembraron las semillas, con cuatro repeticiones (cincuenta semillas por repetición), las bandejas se identificaron adecuadamente (Nº de tratamiento, Nº de repetición y fecha de siembra).
- Una vez concluida la siembra se llevaron las bandejas a la cámara de germinación a 23 °C; 90% de humedad; 8 horas luz y 16 horas oscuridad.
- El riego se realizó cada 48 horas a capacidad de campo.

e. Evaluaciones

- Se iniciaron en promedio a los ocho días después de la siembra, cuando se observaron las primeras plántulas.
- Las evaluaciones se extendieron por 14 días



Primera Evaluación

A los 8 días después de la siembra



Evaluación Final

A los 14 días después de la siembra

- Para la evaluación final se tomaron los parámetros señalados en las reglas ISTA para haba

4.2.2 Diseño Estadístico

Para el análisis de los datos del estudio se utilizó, un diseño completamente al azar trifactorial, porque es el más adecuado para la interpretación del proceso de evaluación en

laboratorio bajo condiciones controladas, ya que el diseño minimiza la variabilidad del material a través de las repeticiones (Calzada, 1982).

Se evaluaron 48 tratamientos, teniendo en cuenta que cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones (cincuenta semillas por repetición).

Los datos obtenidos, fueron analizados por medio del programa estadístico S.A.S. (Sistema de Análisis Estadístico). Realizando antes la transformación de datos usando la fórmula $\sqrt{x+1}$ en las variables: porcentaje de semillas germinadas normales y porcentaje de semillas muertas y $\log x$ en las variables: porcentaje de semillas germinadas anormales y porcentaje de semillas latentes; demostrando que no existe anormalidad en la distribución de errores Ochoa (2007).

4.2.2.1 Modelo Lineal Aditivo

$$\gamma_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \delta_k + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: γ_{ijkl} = Una observación cualquiera

μ = Media general

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor temperatura (°C)

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor tiempo (min)

δ_k = Efecto del k-ésimo nivel del factor calibre (N°granos/onza)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interacción del i-ésimo nivel del factor temperatura con el j-ésimo nivel del factor tiempo

$(\alpha\delta)_{ik}$ = Interacción del i-ésimo nivel del factor temperatura con el k-ésimo nivel del factor calibre

$(\beta\delta)_{jk}$ = Interacción del j-ésimo nivel del factor tiempo con el k-ésimo nivel del factor calibre

$(\alpha\beta\delta)_{ijk}$ = Interacción del i-ésimo nivel del factor temperatura más el j-ésimo nivel del factor tiempo más el k-ésimo nivel del factor calibre

ε_{ijkl} = Error experimental

4.2.2.2 Factores de estudio

FACTOR A	
Temperatura	°C
a1	55
a2	65
a3	75
a4	85

FACTOR B	
Tiempo	Min.
b1	5
b2	10
b3	20
b4	30

FACTOR C	
Calibre	N°granos/onza
c1	Extra
c2	Primera
c3	Segunda

4.2.2.3 Formulación de tratamientos

Calibre Extra			Calibre Primera			Calibre Segunda		
Tratamiento	Temperatura °C	Tiempo Minutos	Tratamiento	Temperatura °C	Tiempo Minutos	Tratamiento	Temperatura °C	Tiempo Minutos
T1	55	5	T2	55	5	T3	55	5
T4	55	10	T5	55	10	T6	55	10
T7	55	20	T8	55	20	T9	55	20
T10	55	30	T11	55	30	T12	55	30
T13	65	5	T14	65	5	T15	65	5
T16	65	10	T17	65	10	T18	65	10
T19	65	20	T20	65	20	T21	65	20
T22	65	30	T23	65	30	T24	65	30
T25	75	5	T26	75	5	T27	75	5
T28	75	10	T29	75	10	T30	75	10
T31	75	20	T32	75	20	T33	75	20
T34	75	30	T35	75	30	T36	75	30
T37	85	5	T38	85	5	T39	85	5
T40	85	10	T41	85	10	T42	85	10

T43	85	20	T44	85	20	T45	85	20
T46	85	30	T47	85	30	T48	85	30

4.2.3 Variables de respuesta

4.2.3.1 Plántulas normales

Primero se observaron las estructuras esenciales de la semilla germinada bajo el siguiente criterio:

- ❖ Presencia de todas las estructuras esenciales
- ❖ Raíz primaria intacta, ó con defectos aceptables (decoloración o puntos necróticos; partiduras o rajaduras cicatrizadas; partiduras o rajaduras superficiales). Suficientes raíces secundarias, en ausencia de raíz primaria.
- ❖ Los cotiledones intactos, ó con defectos aceptables (al menos el 50% de los tejidos están funcionando normalmente; solamente un cotiledón intacto; tres cotiledones).

- ❖ El epicótilo intacto, ó con defectos aceptables (decoloración o puntos necróticos; partiduras o rajaduras cicatrizadas; partiduras ó rajaduras superficiales; torceduras sueltas
- ❖ El brote terminal intacto.
- ❖ Hojas primarias intactas ó muestran al menos 50% de los tejidos funcionando normalmente
- ❖ Una plántula con raíz primaria atrapada en la cubierta de la semilla es considerada normal, sí al final de la prueba la punta de la raíz se encuentra fuera de la cubierta de la semilla.

4.2.3.2 Plántulas anormales

- ❖ La plántula es anormal si: está deformada ó fracturada; consiste de plántulas gemelas fusionadas; está hilada ó vítrea; está deteriorada como resultado de infección primaria
- ❖ Raíz primaria: enana o achaparrada; retardada.
- ❖ Los cotiledones: son defectuosos en extensión, cuando menos de un 50% del tejido original (ó tejido estimado) esta normalmente funcionando; están deformados; están rotos o dañados de otra forma (Ej. Por insectos); están descoloridos o necróticos; están deteriorados como un resultado de infección primaria.
- ❖ El epicótilo, es considerado anormal si está: demasiado corto y grueso; profundamente rajado o roto; hendido derecho de uno al otro lado; perdido; encorvado o formando un lazo; formando una espiral; ligeramente torcido; contraído; hilado ó vítreo; podrida como resultado de una infección primaria.
- ❖ Brote terminal: está defectuoso (aunque los rebrotes auxiliares hayan desarrollado) ó perdido;

- ❖ Hojas primarias se consideran anormales cuando están: deformadas; dañados; separados o perdidos; descoloridos; necróticos; podrido como un resultado de infección primaria.

4.2.3.3 Semillas latentes

Estas semillas no son capaces de absorber agua en condiciones controladas de germinación.

- a. Semillas duras** Son semillas que permanecen duras hasta el final de prueba por no absorber agua.
- b. Semillas latentes o firmes** Apenas absorben agua y se hinchan, presentan un aspecto sano y no se pudren.

4.2.3.4 Semillas muertas

Se clasifican como semillas muertas, las semillas que no han producido gérmenes al finalizar el periodo de ensayo prescrito; se presentan hinchadas mas no germinadas, flácidas y/o podridas, a veces contaminadas por hongos.

4.2.3.5 Días a la germinación

Las observaciones se realizaron a medida que inicio la germinación, variando entre los siete, ocho y nueve días; en algunos tratamientos no se observó ya que todas las semillas murieron.

V RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Porcentaje de semillas germinadas normales

El análisis de varianza demuestra diferencias de alta significancia entre los cuatro niveles de temperatura y tiempo de inmersión, lo que también ocurre con los tres tipos de calibres

Cuadro 4. Análisis de varianza para Porcentaje de Semillas Germinadas Normales

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Temperatura	3	1070.020093	356.673364	2004.86	3.91 **
Tiempo	3	861.373413	278.124471	1613.93	3.91 **
Temperatura*Tiempo	9	347.590829	38.621203	217.09	2.53 **
Calibre	2	4.976466	2.488233	13.99	4.75 **

Temperatura*Calibre	6	11.782936	1.963823	11.04	2.92	**
Tiempo*Calibre	6	2.075400	0.345090	1.91	2.92	NS
Temperatura*Tiempo*Calibre	18	17.772561	0.950698	5.34	2.00	**
Error Experimental	144	25.618239	0.177904			

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

CV = 8.45%

Respecto a las interacciones se observa que los factores temperatura por tiempo, temperatura por calibre y temperatura por tiempo por calibre no son independientes debido a su alta significancia; lo que no ocurre con los factores tiempo por calibre ya que no presentan significancia por lo tanto son independientes respecto al porcentaje de semillas germinadas normales.

Procedente a la significancia de los factores en estudio, se realizó una prueba de medias Duncan al 5%

a. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.

Para el factor A: la prueba indica que las semillas respondieron mejor sumergidas a 55°C logrando un 74% de germinación; lo cual es estadísticamente superior a los porcentajes logrados a 65°C (29%), 75°C (10%) y 85°C que solo llegó a un 5% de geminación, como se observa en la Figura 2.

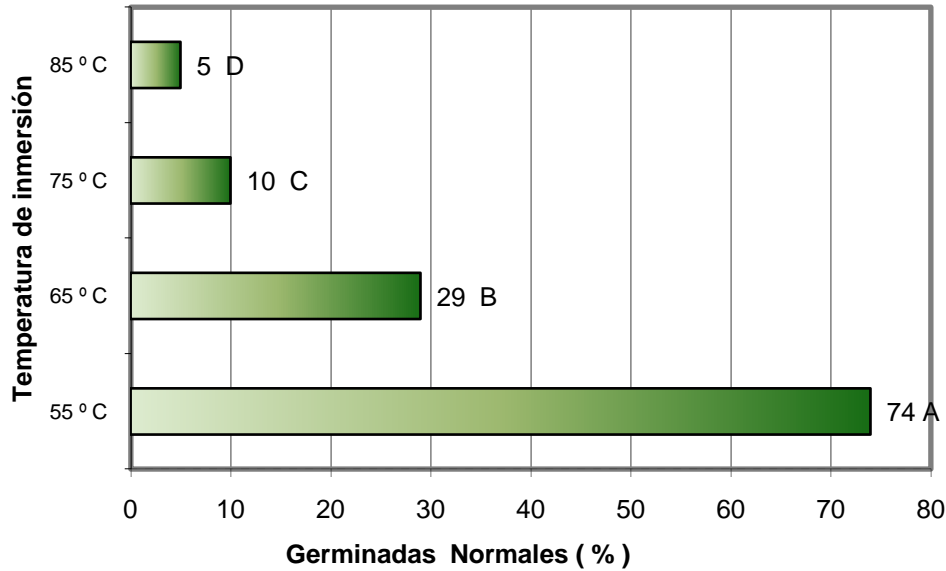


Figura 2. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.

Para que el proceso de germinación (la recuperación de la actividad biológica por parte de la semilla), tenga lugar, es necesario que se den una serie de condiciones favorables como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y, una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y para el desarrollo de la plántula (Azcón-Bieto *et al.*, 1993).

b. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

Para el factor B: el tiempo de inmersión con mejores resultados fue el de 5min. que alcanzó un 68% de germinación, promedio que es estadísticamente superior a los resultados obtenidos a 10min. (27%), 20min. (11%) y 30min. de inmersión que obtuvo el resultado más bajo 7% de germinación, como se observa en la Figura 3.

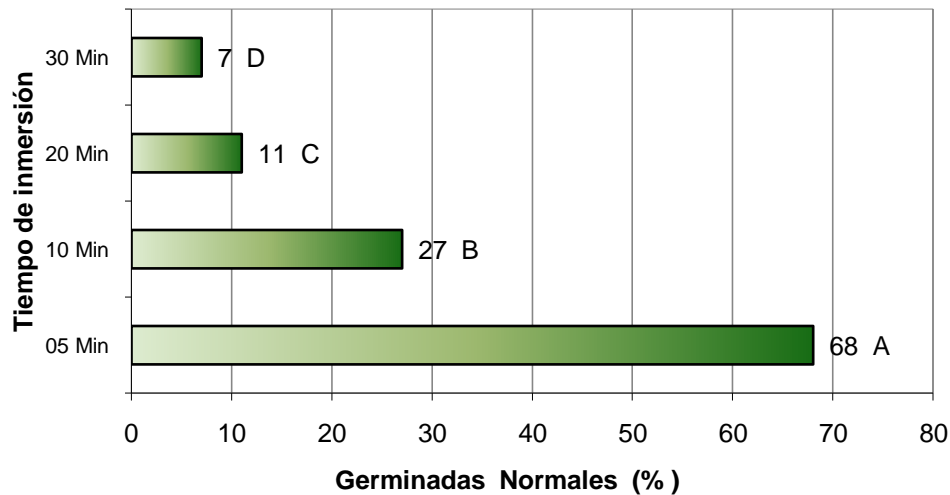


Figura 3. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

La inmersión por 5min provocó una lenta absorción de agua por la semilla, lo que se reflejó en una mejor respuesta en comparación con los demás tiempos de inmersión, considerando que las semillas presentaban un porcentaje de humedad muy bajo (13%) al momento de la inmersión; los tiempos más prolongados provocaron un cambio brusco de temperatura lo que tuvo como consecuencia la muerte del embrión.

La absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos, que incluyen la respiración, la síntesis proteica y la movilización de reservas. A su vez la división y el alargamiento celular en el embrión provocan la rotura de las cubiertas seminales, que generalmente se produce por la emergencia de la radícula (Otero, 2007).

c. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales respecto del calibre de semilla

Factor C: el calibre Extra no respondió de la mejor manera ya que solo logro un 22% de germinación; por su parte el calibre Segunda logró un 26% que fue el más alto y el calibre primera un 24% de germinación, resultados que no son estadísticamente diferentes, como se observa en la Figura 4.

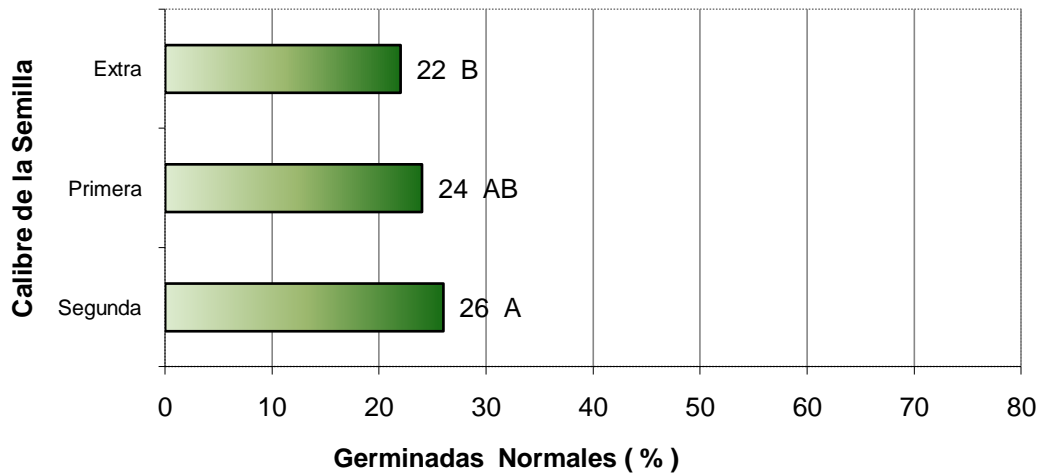


Figura 4. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas normales respecto del calibre de semillas.

Trabajos realizados en laboratorio (ORS) mostraron que en la mayoría de las pruebas de germinación para haba, las semillas con calibre primera responden normalmente; lo que no sucede con las de mayor calibre que a veces necesitan una segunda prueba (especialmente el calibre Extra) ya que se contaminan con mayor frecuencia; apoyando de esta manera los resultados obtenidos en el trabajo realizado.

Al existir interacción entre los factores en estudio, fue necesario realizar el análisis de efecto simple. De acuerdo a Calzada (1982), señala que si en un experimento resulta significativa la interacción entre factores las conclusiones que pueden deducirse de los efectos principales, pierden su interés, adquiriendo por el contrario su importancia las conclusiones que se deduzcan de la significación de los efectos simples.

5.1.1 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo

El Cuadro 5, indica que el factor: Tiempo de inmersión, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de semillas germinadas normales, cuando se combina con las cuatro temperaturas de inmersión.

Así mismo, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos significativamente diferentes respecto al porcentaje de semillas germinadas normales, cuando se combinan con los cuatro tiempos de inmersión.

Cuadro 5. Análisis de efectos simples para la interacción Temperaturas y Tiempos de inmersión para el porcentaje de Semillas Germinadas Normales.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Tiempo de inmersión (B), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de B en A1 (55°C)	3	35.757556	11.919185	66.99	3.91 **
Efecto de B en A2 (65°C)	3	345.620809	115.206936	647.59	3.91 **
Efecto de B en A3 (75°C)	3	522.610730	174.203577	947.19	3.91 **
Efecto de B en A4 (85°C)	3	304.975147	101.658382	101.48	3.91 **
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Tiempo de inmersión (B1, B2, B3, B4)					
Efecto de A en B1 (5 Min.)	3	37.700886	12.566962	70.64	3.91 **
Efecto de A en B2 (10 Min.)	3	598.826001	199.608667	1122.00	3.91 **
Efecto de A en B3 (20 Min.)	3	459.814650	153.271550	861.54	3.91 **
Efecto de A en B4 (30 Min.)	3	321.269384	107.089795	601.95	3.91 **
Error Experimental	144	25.618239	0.177904		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

En la Figura 5, se observa que: a 55°C (A1) el tiempo de inmersión más adecuado para obtener un mayor porcentaje de semillas germinadas normales es el de B2 (10Min.) que alcanzo un 91%; en las pruebas de germinación realizadas en laboratorio las semillas de haba, germinan a los 8 ó 9 días después de la siembra, pero al realizar este tratamiento la germinación inicio entre los 6 y 7 días lo que nos indico que el mismo no causa efectos negativos en la estructura de la semilla sino al contrario acelera el proceso de rehidratación lo que a su vez acelera el proceso de germinación.

Sumergiendo la semilla a 65°C los tiempos B1(5Min.) y B2 (10Min.) son estadísticamente similares, los porcentajes de germinación decrecen significativamente al combinarlas con B3 (20Min.) y B4 (30Min.), pero estas entre si no son estadísticamente similares en estos tratamientos se observa que la tasa de germinación decrece significativamente respecto del mínimo señalado por las reglas ISTA lo que nos indico que las semillas sufrieron daños en su estructura.

A 75°C el tiempo de inmersión que mejor responde es el de B1 (5Min.) pero las combinaciones con B2 (10Min.), B3 (20Min.) y B4 (30Min.) decrecen significativamente llegando incluso a no germinar debido a los tiempos muy prolongados; finalmente se observa que al combinar los tiempos B2 (10Min.), B3 (20Min.) y B4 (30Min.) a 85°C las semillas no llegan a germinar, solo al combinar con el tiempo B1 se observa un bajo porcentaje de germinación.

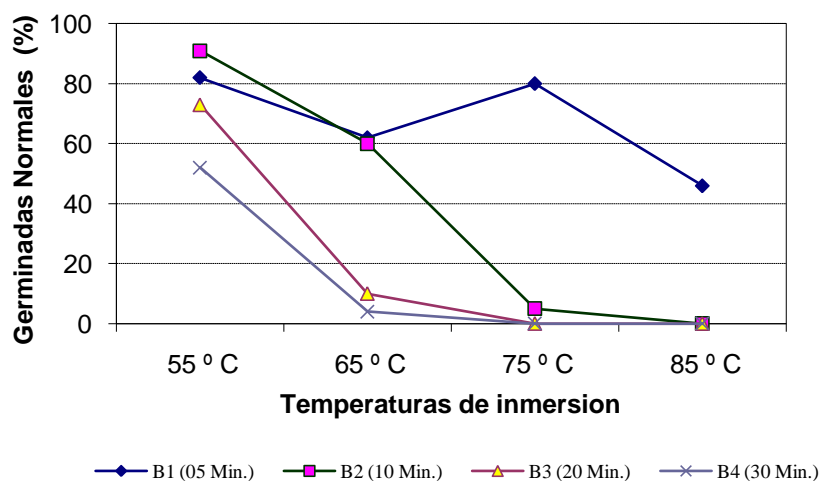


Figura 5. Interacción entre Tiempos de inmersión y temperaturas de inmersión, para el porcentaje de Semillas Germinadas Normales.

5.1.2 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre

El Cuadro 6, indica que el factor: Calibre, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de germinación, cuando se combina con las temperaturas: A2 (65°C) y A4 (85°C), sin embargo no se encuentran diferencias estadísticas entre calibres al utilizar las temperaturas A1 (55°C) y A3 (75°C).

Cuadro 6. Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre para el porcentaje de Semillas Germinadas Normales.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de C en A1 (55°C)	2	0.893096	0.446548	2.51	4.75 NS
Efecto de C en A2 (65°C)	2	13.303714	6.651857	37.39	4.75 **
Efecto de C en A3 (75°C)	2	0.562299	0.281150	1.58	4.75 NS
Efecto de C en A4 (85°C)	2	2.000292	1.000146	5.62	4.75 **
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de A en C1 (Extra)	3	354.542806	118.180935	664.29	3.91 **
Efecto de A en C2 (Primera)	3	373.353770	124.451257	699.54	3.91 **
Efecto de A en C3 (Segunda)	3	353.906454	117.968818	1000.36	3.91 **
Error Experimental	144	25.618239	0.177904		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

Así mismo el Cuadro 6, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos significativamente diferentes respecto al porcentaje de germinación, cuando se combinan con los calibres C1 (Extra), C2 (Primera) y C3 (Segunda).

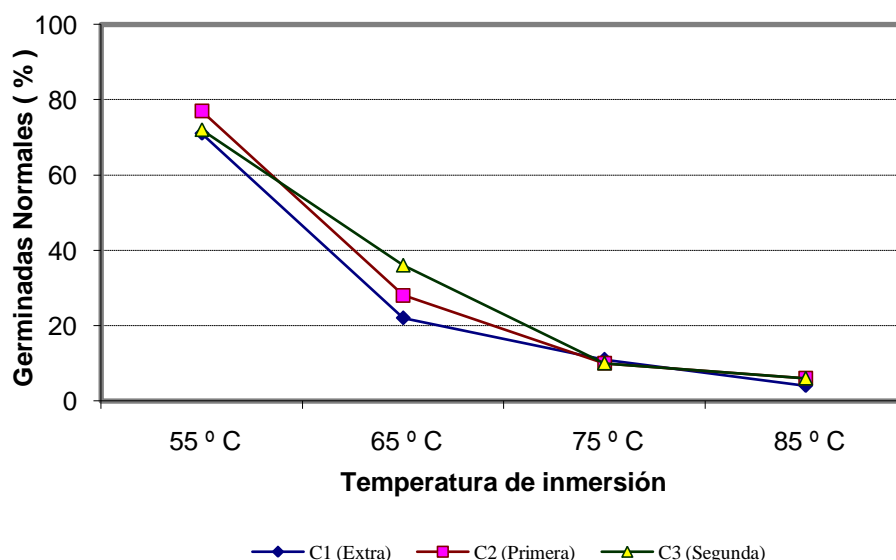


Figura 6. Interacción entre Temperaturas de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Germinadas Normales

En la Figura 6, se observa que al combinar la temperatura de inmersión A1 (55°C) con C2 (Primera) se obtiene el mayor porcentaje de semillas germinadas normales, también se obtienen porcentajes importantes al combinar esta temperatura con los calibres C3 (Segunda) y C1 (Extra); sin embargo a 65°C la diferencia entre los calibres no es significativa y porcentajes de germinación van reduciendo respecto de la primera temperatura de inmersión, los porcentajes de germinación en las temperaturas A3 (75°C) son estadísticamente similares para los tres tipos de calibres, y para la temperatura A4 (85°C) de igual manera se observa un bajo porcentaje de germinación al parecer no existen diferencias estadísticas entre estos calibres.

5.2 Porcentaje de Semillas Germinadas Anormales

En el análisis de varianza se manifiesta diferencias significativas entre tiempos de inmersión y una alta significancia entre calibres de semilla, lo que no ocurre entre las temperaturas de inmersión que no presentan diferencias significativas.

Cuadro 7. Análisis de Varianza para Semillas Germinadas Anormales

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Temperatura	3	0.25125250	0.08375083	1.97	4.31 NS
Tiempo	3	0.45208050	0.15069350	3.55	4.31 *
Temperatura*Tiempo	2	0.15574414	0.07787207	1.83	5.18 NS
Calibre	2	0.63725485	0.31862742	7.50	5.18 **
Temperatura*Calibre	5	0.59190890	0.11838178	2.79	3.51 *
Tiempo*Calibre	6	0.13302408	0.02217068	0.52	3.29 NS
Temperatura*Tiempo*Calibre	2	0.00000000	0.00000000	0.00	5.18 NS
Error Experimental	40	1.69942529	0.04248563		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

$$CV = 12.54\%$$

Respecto a las interacciones se observa que los factores temperatura por calibre no son independientes debido a su significancia, por lo que corresponde un análisis de efectos simples; lo que no ocurre con los factores temperatura por calibre, tiempo por calibre y temperatura por tiempo por calibre ya que no presentan significancia por lo tanto son independientes respecto al porcentaje de semillas germinadas anormales, cuadro 7.

Procedente a la significancia de los factores en estudio, se realizó una prueba de medias Duncan al 5%

a. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas anormales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

Para el factor B: el tiempo de inmersión que dio lugar a un mayor porcentaje de semillas germinadas anormales fue el de 30min. alcanzando un 7%, que es estadísticamente superior al 5% obtenido a 10min. A su vez a 5min. y 20min. de inmersión se observó un menor porcentaje de semillas germinadas anormales (4%) por lo tanto no son estadísticamente diferentes, como se observa en la Figura 7.

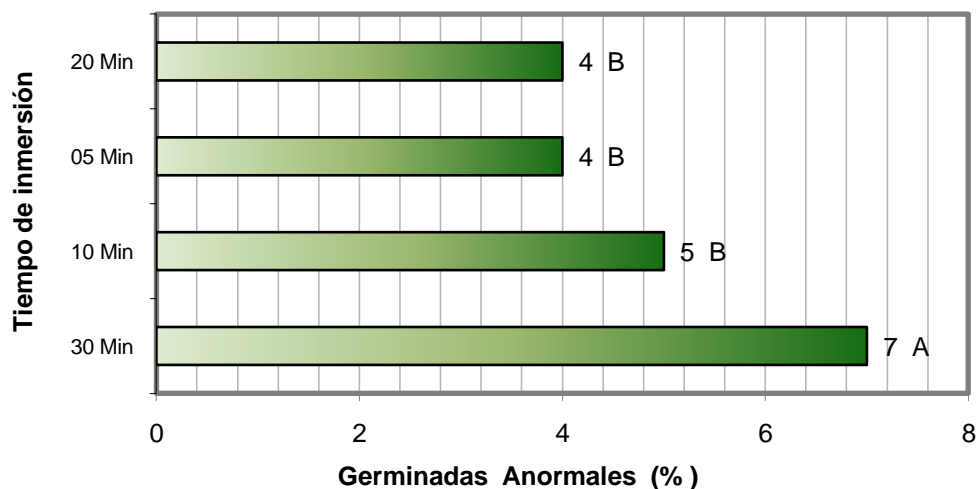


Figura 7. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas anormales por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

b. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas anormales respecto del calibre de semilla

Factor C: el calibre Extra alcanzó el mayor porcentaje (6%) de semillas germinadas anormales que es estadísticamente superior a los porcentajes obtenidos por los calibres segunda y primera que alcanzaron un 4%, como se observa en la Figura 8.

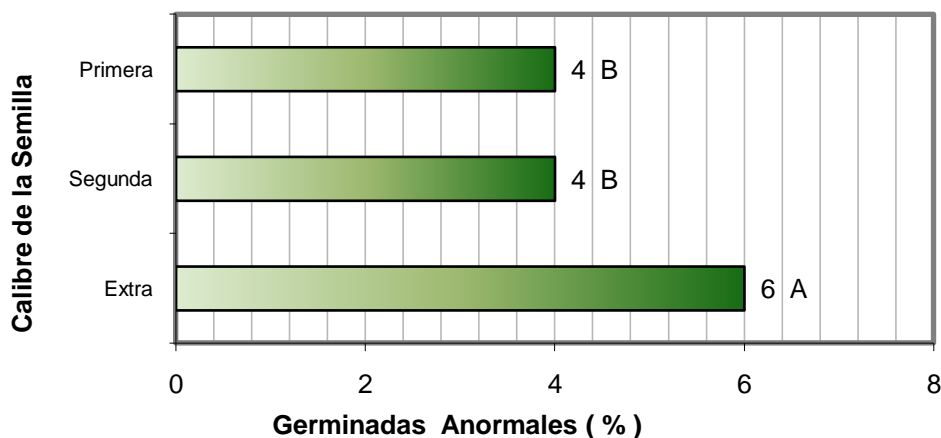


Figura 8. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas germinadas anormales respecto del calibre de semillas.

5.2.1 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre

El Cuadro 8, indica que el factor: Calibre, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de semillas germinadas anormales, cuando se combina con la temperatura: A1 (55°C), sin embargo no se encuentran diferencias estadísticas entre calibres al utilizar las temperaturas A2 (65°C), A3 (75°C) y A4 (85°C).

Cuadro 8. Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre para el porcentaje de Semillas Germinadas Anormales.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	F _c	F _t (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de C en A1 (55°C)	2	0.925699	0.462849	1.89	5.18 **
Efecto de C en A2 (65°C)	2	0.025389	0.012694	0.29	5.18 NS
Efecto de C en A3 (75°C)	1	0.026249	0.026249	0.62	7.31 NS
Efecto de C en A4 (85°C)	2	0.251827	0.125913	2.96	5.18 NS
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de A en C1 (Extra)	2	0.111114	0.055557	1.31	5.18 NS
Efecto de A en C2 (Primera)	3	0.456918	0.153206	3.6	4.31 *
Efecto de A en C3 (Segunda)	3	0.272430	0.090810	2.14	4.31 NS
Error Experimental	40	1.699425	0.042486		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; F_c = F calculado; F_t = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

Así mismo el Cuadro, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos significativamente diferentes respecto al porcentaje de semillas germinadas anormales, cuando se combinan con la categoría C2 (Primera) y no así cuando se combinan con las categorías C1 (Extra) y C3 (Segunda).

En la Figura 9, se observa que al combinar la temperatura de inmersión A1 (55°C) con el calibre C1 (Extra) se obtiene el mayor porcentaje de semillas germinadas anormales, lo que no ocurre al combinar esta temperatura con los calibres C2 (Primera) y C3 (Segunda); a su vez sumergidas las semillas a 65°C no presentan diferencias estadísticas, a 75°C se observan diferencias significativas, finalmente a 85°C se observa que el calibre Segunda registra el mayor porcentaje de semillas germinadas anormales, lo mismo ocurre con los calibres Extra y Primera respectivamente.

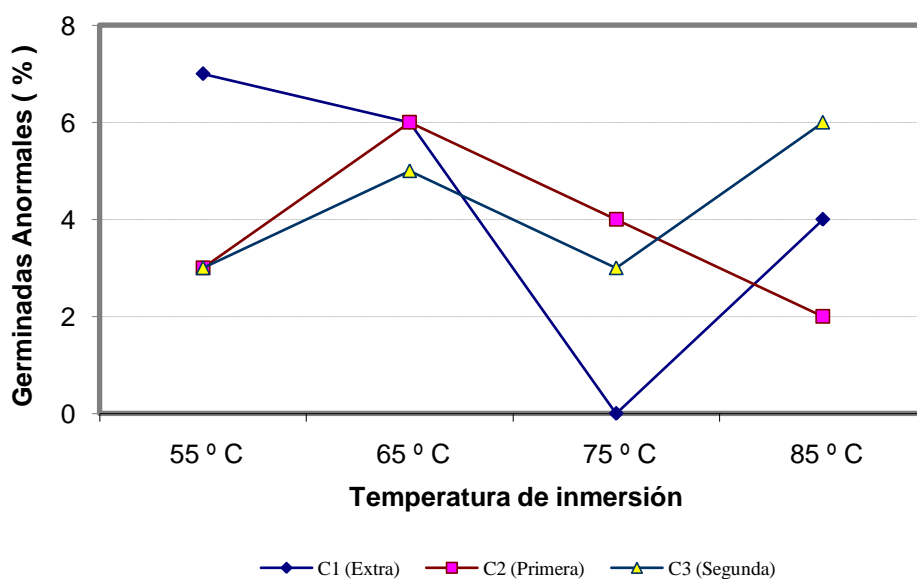


Figura 9. Interacción entre Temperaturas de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Germinadas Anormales

5.3 Porcentaje de Semillas Latentes

El análisis de varianza demuestra diferencias de alta significancia entre los tres tipos de calibres, lo que no ocurrió con las cuatro temperaturas y tiempos de inmersión que no presentaron diferencias significativas.

Cuadro 9. Análisis de varianza para Porcentaje de Semillas Latentes

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Temperatura	3	0.45574526	0.15191509	2.56	4.13 NS
Tiempo	3	0.08785066	0.02928355	0.49	4.13 NS
Temperatura*Tiempo	5	1.80182067	0.36036413	6.07	3.34 **
Calibre	2	0.37377309	0.18688655	3.15	4.98 *
Temperatura*Calibre	6	1.00890639	0.16815106	2.83	3.12 *
Tiempo*Calibre	6	0.96876127	0.16146021	2.72	3.12 *
Temperatura*Tiempo*Calibre	8	0.65924758	0.08240596	1.39	2.82 NS
Error Experimental	60	3.55961871	0.05932698		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado;
Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

CV = 14.16%

Respecto a las interacciones se observa que solo los factores temperatura por tiempo presentaron diferencias altamente significativas; en los factores temperatura por tiempo y calibre por tiempo se denotan diferencias significativas, por lo que se deduce que estas interacciones no son independientes; lo que no ocurre con los factores temperatura por tiempo por calibre ya que no presenta significancia por lo tanto son independientes respecto al porcentaje de semillas que quedaron latentes, cuadro 9.

a. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas latentes respecto del calibre de semilla

El análisis de medias Duncan, para calibres se muestra en la Figura 10, donde existen diferencias estadísticas entre los tres tipos de calibres, resaltando el calibre Segunda, que obtuvo el mayor porcentaje de semillas que quedaron latentes (6%), en comparación con los calibres Extra (5%) y Primera (4%), que respondieron mejor a los tratamientos logrando menores porcentajes.

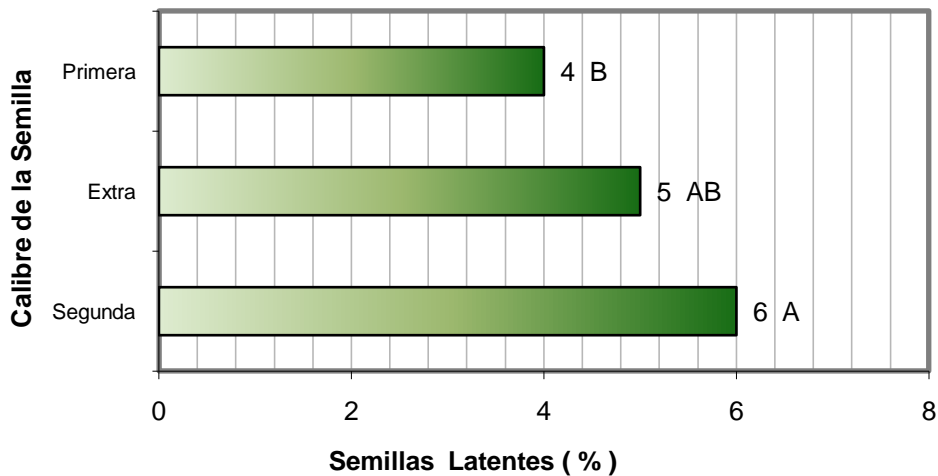


Figura 10. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas latentes respecto del calibre de semillas.

En las pruebas realizadas se observó que en algunas semillas se había iniciado el desarrollo de la radícula, pero esta no rompió la testa, por lo que no pudo seguir con el proceso de germinación.

Muchas son las causas que determinan la latencia entre ellas que la envoltura del embrión o de la semilla son impermeables o demasiado duras por lo que impiden su expresión y la emergencia de la radícula. Otra causa podría ser la presencia de embriones fisiológicamente inmaduros (Lisakowski, 2007).

Algunas especies que germinan normalmente pueden ser inducidas a entrar en estado de dormancia cuando mantenidas en condiciones desfavorables, como temperaturas inadecuadas, oscuridad prolongada, exposición a la luz, estrés de agua y falta de oxígeno, (Otero, 2007).

Generalmente la dormancia secundaria es inducida cuando se da a las semillas todas las condiciones favorables excepto una, como condiciones de anoxia, temperatura y luz inadecuada (Azcón-Bieto *et al.*, 1993).

5.3.1 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo

El Cuadro 10, indica que el factor: Tiempo de inmersión, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de semillas latentes, cuando se combina con las temperaturas A1 (55°C) y A2 (65°C), lo que no ocurre al combinarlos con las temperaturas A3 (75°C) y A4 (85°C) que no presentan diferencias significativas.

Cuadro 10. Análisis de efectos simples para la interacción Temperaturas y Tiempos de inmersión para el porcentaje de Semillas Latentes

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Tiempo de inmersión (B), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de B en A1 (55°C)	3	0.815188	0.271729	4.58	4.13 **
Efecto de B en A2 (65°C)	3	1.057372	0.352457	5.94	4.13 **
Efecto de B en A3 (75°C)	1	0.012784	0.012784	0.22	7.08 NS
Efecto de B en A4 (85°C)	1	0.000433	0.004327	0.07	7.08 NS
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Tiempo de inmersión (B1, B2, B3, B4)					
Efecto de A en B1 (5 Min.)	3	0.911148	0.303716	5.12	4.13 **
Efecto de A en B2 (10 Min.)	3	0.666092	0.222031	3.74	4.13 **
Efecto de A en B3 (20 Min.)	1	0.607437	0.607437	10.24	7.08 **
Efecto de A en B4 (30 Min.)	1	0.072888	0.072888	1.23	7.08 NS
Error Experimental	60	3.559619	0.059327		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

Así mismo, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos altamente significativos respecto al porcentaje de semillas latentes, cuando se combinan a 5min. (B1), 10min. (B2) y 20min. (B3) de inmersión; todo lo contrario ocurrió al sumergir las semillas 30min. (B4) que no presenta diferencias significativas.

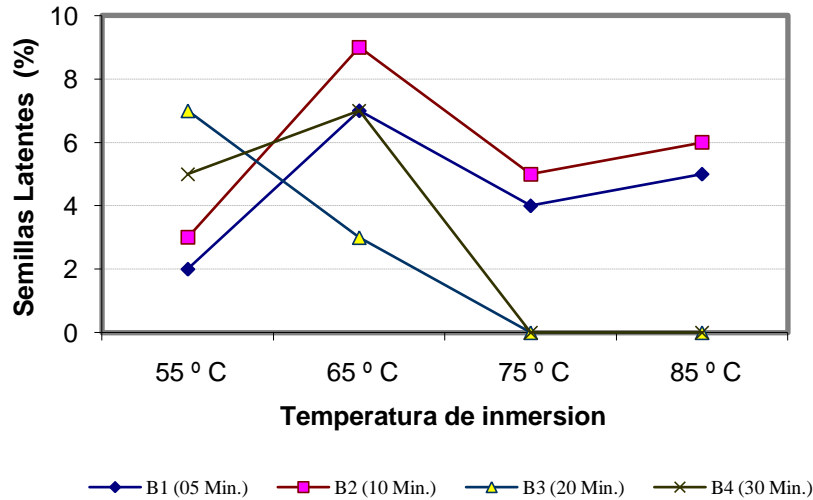


Figura 11. Interacción entre tiempos y temperaturas de inmersión, para el porcentaje de Semillas Latentes.

En la figura 11, se observa que al combinar la temperatura A1 (55°C) con los tiempos B3 (20Min.), B4 (30Min.) B2 (10Min.) y B1 (5Min.) los porcentajes de semillas latentes van descendiendo respectivamente, la combinación de la temperatura A2 (65°C) con los tiempos B2 (10Min.), B1 (5Min.) y B4 (30Min.) registran los mayores porcentajes de semillas que quedaron latentes, pero la combinación con B3 (20Min.) presenta diferencias estadísticas al alcanzar una baja presencia de semillas latentes; al combinar las temperaturas A3 (75°C) y A4 (85°C) con los tiempos B2 (10Min.) y B1 (5Min.) respectivamente se observa que aumenta el porcentaje de semillas latentes pero no de manera significativa; por otro lado la combinación de las temperaturas A3 (75°C) y A4 (85°C) con los tiempos B3 (20Min.) y B4 (30Min.) no presentaron semillas Latentes ya que todas murieron.

5.3.2 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre

En el cuadro 11, se observa que existen diferencias significativas y altamente significativas en el efecto de los calibres con respecto a las temperaturas A1 (55°C) y A2 (65°C) respectivamente, pero en las temperaturas A3 (75°C) y A4 (85°C) no se observan diferencias significativas.

Cuadro 11. Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre para el porcentaje de Semillas Latentes.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de C en A1 (55°C)	2	0.444297	0.222148	3.74	4.98 *
Efecto de C en A2 (65°C)	2	0.892824	0.446412	7.52	4.98 **
Efecto de C en A3 (75°C)	2	0.029016	0.014508	0.24	4.98 NS
Efecto de C en A4 (85°C)	2	0.016543	0.008272	0.01	4.98 NS
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de A en C1 (Extra)	3	1.240142	0.413381	6.97	4.13 **
Efecto de A en C2 (Primera)	3	0.064845	0.021615	0.36	4.13 NS
Efecto de A en C3 (Segunda)	3	0.159664	0.053221	0.89	4.13 NS
Error Experimental	60	3.559619	0.059327		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

En el efecto de las temperaturas solo se observa diferencias altamente significativas en el calibre C1 (Extra) y no así en el calibre Primera (c2) y el calibre Segunda (C3), que no son significativos.

En la figura 12, se observa que al combinar la temperatura A1 con el calibre Segunda se registra el mayor porcentaje de semillas que quedaron latentes, seguido por el calibre Primera y finalmente el calibre Extra; para la combinación de la temperatura A2 (65°C), con el calibre Extra se registra el porcentaje más alto de semillas latentes, reduciéndose este, al combinarse con el calibre Segunda y Primera respectivamente; a 75°C (A3) se observa que los calibres Primera y segunda son estadísticamente similares pero el calibre Extra registra un menor porcentaje de semillas latentes respecto de los anteriores; finalmente se observa que al combinar la temperatura A4 (85°C) con los calibres Extra y segunda son estadísticamente similares pero diferentes con respecto al calibre Primera que registra un menor porcentaje de semillas que quedaron latentes.

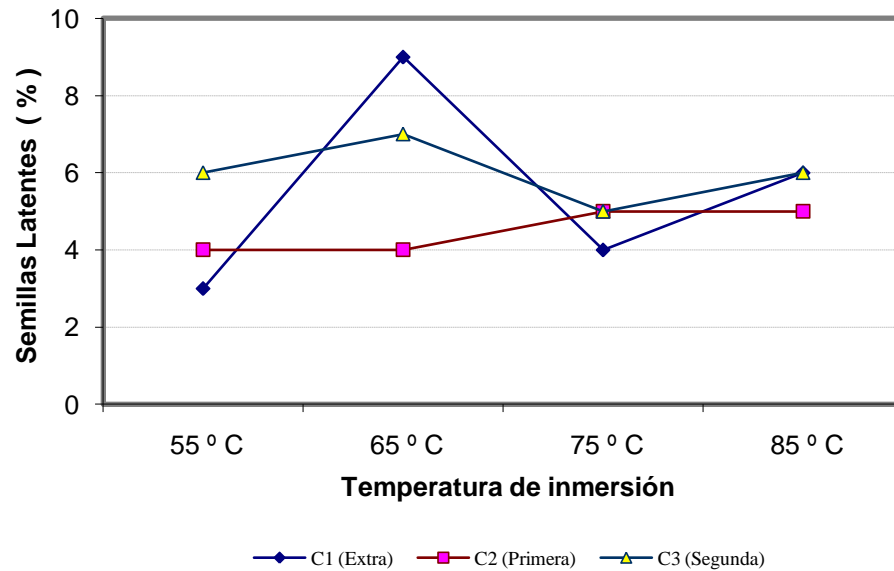


Figura 12. Interacción entre Temperaturas de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Latentes

5.3.3 Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre

Cuadro 12. Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre para el porcentaje de Semillas Latentes

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Tiempo de inmersión (B1, B2, B3, B4)					
Efecto de C en B1 (5 Min.)	2	0.243467	0.121733	2.05	4.98 NS
Efecto de C en B2 (10 Min.)	2	0.157881	0.078941	1.33	4.98 NS
Efecto de C en B3 (20 Min.)	2	0.277948	0.138974	2.34	4.98 NS
Efecto de C en B4 (30 Min.)	2	0.663238	0.331619	5.59	4.98 **
Efecto del Tiempo de inmersión (B), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de B en C1 (Extra)	1	0.342226	0.114075	1.92	4.13 NS
Efecto de B en C2 (Primera)	1	0.258930	0.086310	1.46	4.13 NS
Efecto de B en C3 (Segunda)	1	0.455456	0.151819	2.56	4.13 NS
Error Experimental	60	3.559619	0.059327		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

En el cuadro 12, se observa que solo existen diferencias altamente significativas en el efecto de los calibres respecto al porcentaje de semillas que quedaron latentes cuando se combina con el tiempo B4 (30 min.) esto debido a que en esta combinación todas las semillas murieron. Así mismo los restantes efectos no presentan diferencias significativas.

Respecto al efecto del tiempo de inmersión entre los calibres no se presentan diferencias significativas.

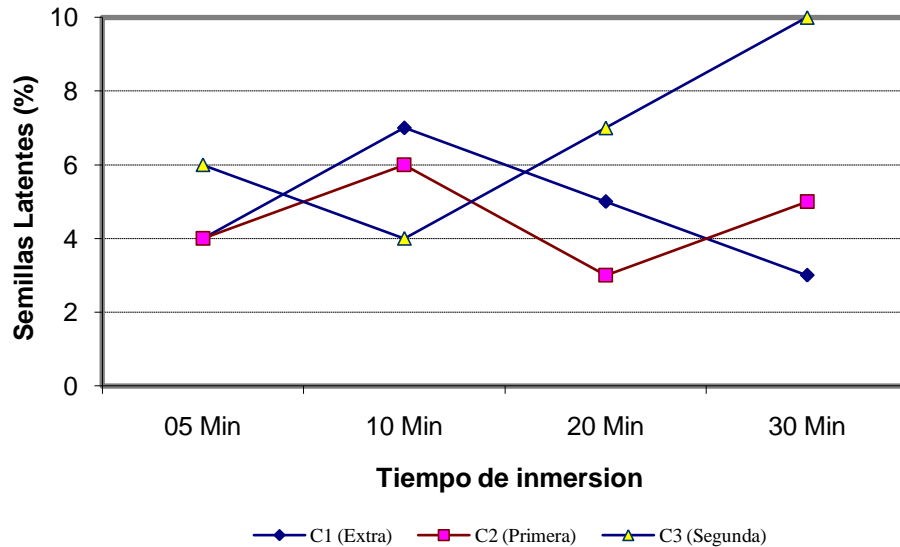


Figura 13. Interacción entre Tiempos de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Latentes

En la Figura 13, se observa que al sumergir la semillas por 5min. (B1) el calibre segunda registra el mayor porcentaje de semillas que quedaron latentes, seguido por el calibre extra y primera que son similares; al sumergirlas por 10min. (B2) el calibre extra registra el mayor porcentaje de semillas latentes seguido del calibre primera y el calibre segunda que registra un bajo porcentaje; sumergidas a 20min. (B3) el calibre segunda registra el mayor porcentaje seguido por los calibres extra y primera; finalmente para la interacción con el tiempo B4 (30Min.) y el calibre segunda se registra el porcentaje más alto de semillas que quedaron latentes seguido por el calibre primera y el calibre extra que registró el porcentaje más bajo.

Es común en muchas especies de *Fabaceae*, que a pesar de que están vivas, no germinan cuando son sometidas a condiciones controladas y consideradas optimas para su germinación. (Lisakowski, 2007)

5.4 Porcentaje de Semillas Muertas

El análisis de varianza demuestra diferencias de alta significancia entre los cuatro niveles de temperatura y tiempo de inmersión, lo que también ocurre con los tres tipos de calibres.

Cuadro 13. Análisis de varianza para Porcentaje de Semillas Muertas

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Temperatura	3	719.8261130	239.9420377	1371.48	3.91 **
Tiempo	3	534.8853716	178.2951239	1019.11	3.91 **
Temperatura*Tiempo	9	238.3223793	26.4802644	151.36	2.53 **
Calibre	2	3.2403952	1.6201976	9.26	4.75 **
Temperatura*Calibre	6	9.9396714	1.6566119	9.47	2.92 **
Tiempo*Calibre	6	2.9947463	0.4991244	2.85	2.92 *
Temperatura*Tiempo*Calibre	18	25.1552383	1.3975132	7.99	2.00 **
Error Experimental	144	25.1930410	0.1749520		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

$$CV = 5.82\%$$

Respecto a las interacciones se observa que los factores temperatura por tiempo, temperatura por calibre y temperatura por tiempo por calibre no son independientes debido a su alta significancia; los factores tiempo por calibre y presentan diferencias significativas por lo tanto no son independientes respecto al porcentaje de semillas muertas. Cuadro 13.

Procedente a la significancia de los factores en estudio, se realizó una prueba de medias Duncan al 5%

a. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.

Para el factor A: la prueba indica que a 85°C de inmersión se observaron las mayores pérdidas 83% de semillas muertas, lo que es estadísticamente superior a los resultados

logrados a 75°C (69%), 65°C (49%) y 55°C que manifestó pérdidas inferiores al 16%, como se observa en la Figura 14.

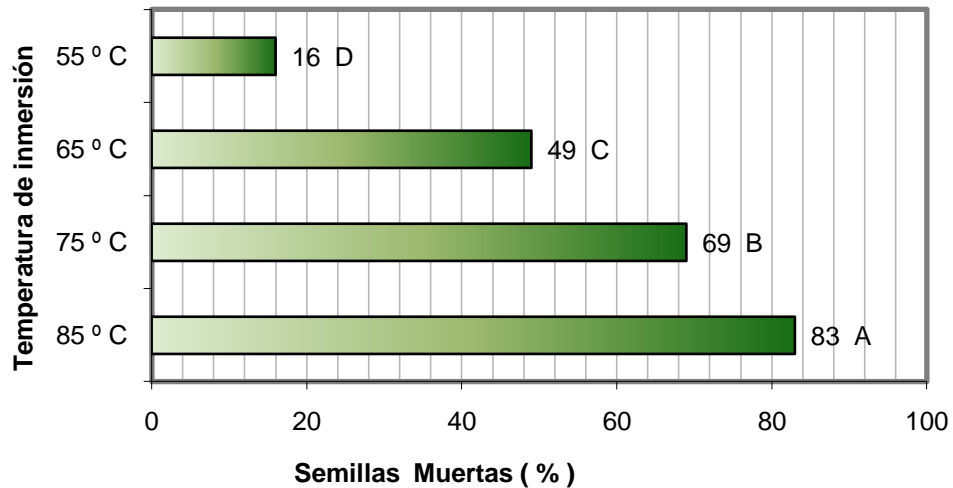


Figura 14. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes temperaturas de inmersión.

b. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

Para el factor B: el tiempo de inmersión con mayores pérdidas fue el de 30 min. que alcanzó un 79%, que es estadísticamente superior a los resultados obtenidos a 20min. (69%), 10 min.(45%) y 5min. de inmersión que obtuvo el resultado más bajo 20% de pérdidas, como se observa en la Figura 15.

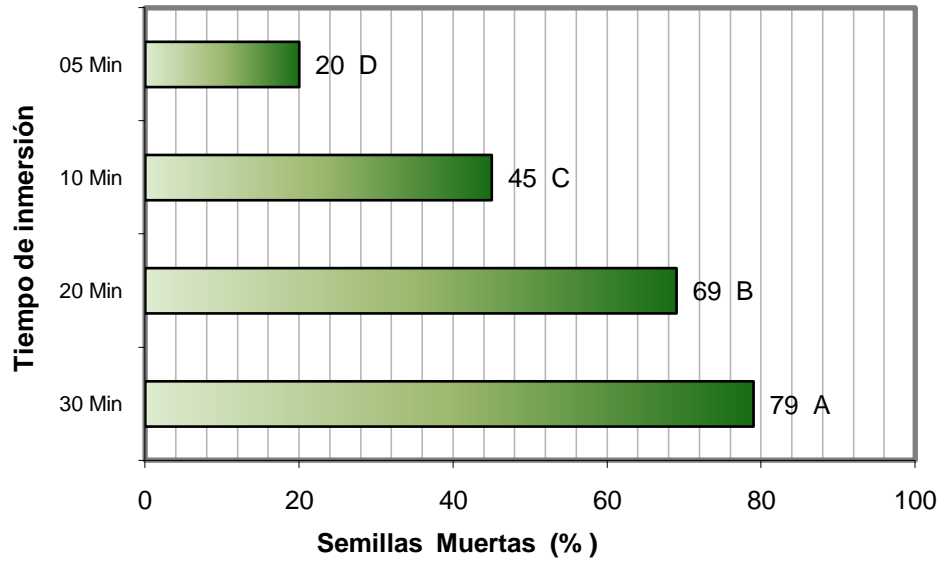


Figura 15. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas por efecto de diferentes tiempos de inmersión.

La cobertura protectora tiene la función de regular la velocidad de rehidratación, intercambio gaseoso de la semilla y la germinación causando inclusive la dormancia o la muerte en algunas especies (Otero, 2007).

c. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas respecto del calibre de semilla

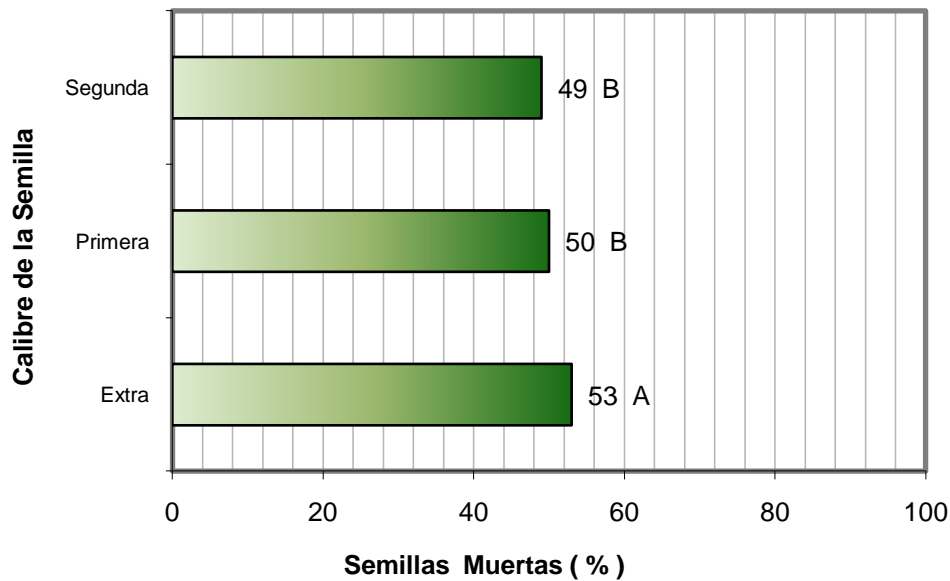


Figura 16. Comparación de medias Duncan (5%), para el porcentaje de semillas muertas respecto del calibre de semillas.

Figura 16, El calibre Extra no respondió de la mejor manera ya que tuvo un 53% de semillas muertas, por su parte el calibre Segunda logro un 50% y el calibre primera 49% de perdidas, resultados que son estadísticamente similares, como se observa en la Figura La mayoría de las pérdidas se debieron a problemas de contaminación con hongos propios de laboratorio (*Rhizopus* y *Penicillium*) esto debido a que las temperatura y tiempos de inmersión más prolongados provocaron una desnaturalización de las proteínas lo cual a su vez no permitió que se inicie la segunda fase de la germinación, es así que los hongos iniciaron su proceso de descomposición, dadas las condiciones.

Las leguminosas se encuentran entre un tercer grupo de semillas, las que, almacenan proteínas junto con cantidades considerables de almidón.

Al respecto Azcón-Bieto *et al.*, (1993), señala que las semillas contienen cantidades relativamente importantes de reservas alimenticias, que permitirán el crecimiento y el desarrollo de la plántula hasta que ésta sea capaz de alimentarse por sí misma. Estas

reservas se encuentran en su mayor parte, formando cuerpos intracelulares que contienen lípidos, proteínas, carbohidratos y compuestos inorgánicos

5.4.1 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Tiempo

El Cuadro 14, indica que el factor: Tiempo de inmersión, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de semillas muertas, cuando se combina con las cuatro temperaturas de inmersión.

Así mismo, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos altamente significativos respecto al porcentaje de semillas muertas, cuando se combinan con los cuatro tiempos de inmersión.

Cuadro 14. Análisis de efectos simples para la interacción Temperaturas y Tiempos de inmersión para el porcentaje de Semillas Muertas.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Tiempo de inmersión (B), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de B en A1 (55°C)	3	87.453465	29.151155	166.62	3.91 **
Efecto de B en A2 (65°C)	3	257.978912	85.992971	491.52	3.91 **
Efecto de B en A3 (75°C)	3	331.212910	110.404303	631.05	3.91 **
Efecto de B en A4 (85°C)	3	96.562465	32.187488	183.98	3.91 **
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Tiempo de inmersión (B1, B2, B3, B4)					
Efecto de A en B1 (5 Min.)	3	74.989218	24.996406	142.88	3.91 **
Efecto de A en B2 (10 Min.)	3	464.778141	154.926047	885.53	3.91 **
Efecto de A en B3 (20 Min.)	3	296.228184	98.742728	564.39	3.91 **
Efecto de A en B4 (30 Min.)	3	122.152949	40.717650	232.74	3.91 **
Error Experimental	144	25.193041	0.174952		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

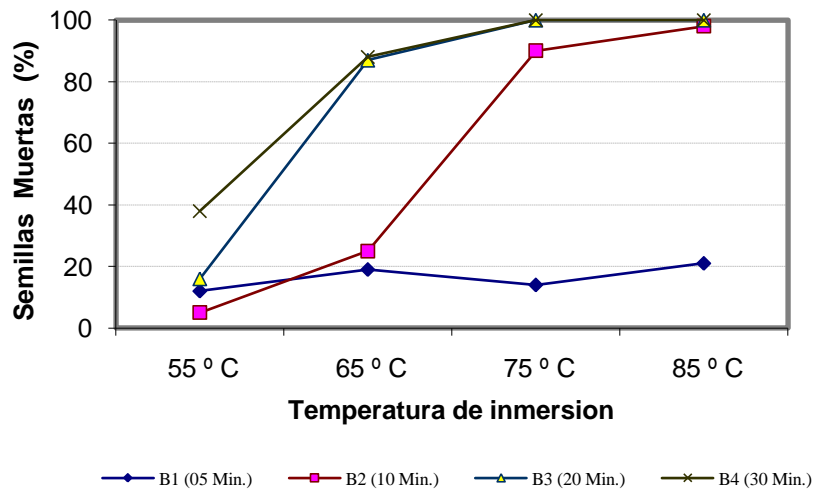


Figura 17. Interacción entre Tiempos de inmersión y temperaturas de inmersión, para el porcentaje de Semillas Muertas

La Figura 17, indica que al combinar la temperatura de inmersión A1 (55°C) con los cuatro tiempos se obtienen porcentajes de semilla muertas muy bajas pero estadísticamente similares a excepción del tiempo B4 (30Min.) que registra un porcentaje más elevado. Para la inmersión a A2 (65°C) se observa al combinar esta con los tiempos B4 (30Min.) y B3 (20Min.) se alcanza un alto porcentaje respecto de lo obtenido con B2 (10Min.) y B1 (5Min.); para la combinación de A3 (75°C) con B3 (20Min.) y B4 (30Min.) alcanza el total de semillas muertas seguido muy de cerca por el tiempo de inmersión B2 (10Min.); al sumergir las semillas a 85°C por 10, 20 y 30 min. se observa el mayor porcentaje de semillas muertas. Para el efecto de la temperatura de inmersión sobre el tiempo B1 (5Min.) se observa que lograron los menores porcentajes de semilla muertas.

5.4.2 Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre

El Cuadro 15, indica que el factor: Calibre, tiene diferencias altamente significativas entre porcentajes de semillas muertas, cuando se combina con las cuatro temperaturas de inmersión.

Cuadro 15. Análisis de efectos simples para la interacción Temperatura por Calibre para el porcentaje de Semillas Muertas.

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	F t (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Temperatura de inmersión (A1, A2, A3, A4)					
Efecto de C en A1 (55°C)	2	2.047985	1.023992	5.85	4.75 **
Efecto de C en A2 (65°C)	2	7.338558	3.669279	20.97	4.75 **
Efecto de C en A3 (75°C)	2	1.694459	0.847230	4.84	4.75 **
Efecto de C en A4 (85°C)	2	2.099065	1.049533	5.99	4.75 **
Efecto de la Temperatura de inmersión (A), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de A en C1 (Extra)	3	228.054266	76.018089	434.51	3.91 **
Efecto de A en C2 (Primera)	3	268.171163	89.390388	510.94	3.91 **
Efecto de A en C3 (Segunda)	3	233.540356	77.847854	444.97	3.91 **
Error Experimental	144	25.193041	0.174952		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

Así mismo, muestra que las temperaturas de inmersión causan efectos altamente significativos respecto al porcentaje de semillas muertas, cuando se combinan con los tres calibres.

En la Figura 18, se observa que al combinar la temperatura de inmersión A4 (85°C) con C1 (Extra) se obtiene el mayor porcentaje de semillas muertas; por otro lado se observa que la combinación entre las cuatro temperaturas y los tres calibres, los porcentajes de semillas muertas van ascendiendo progresivamente sin mostrar diferencias significativas ente combinaciones.

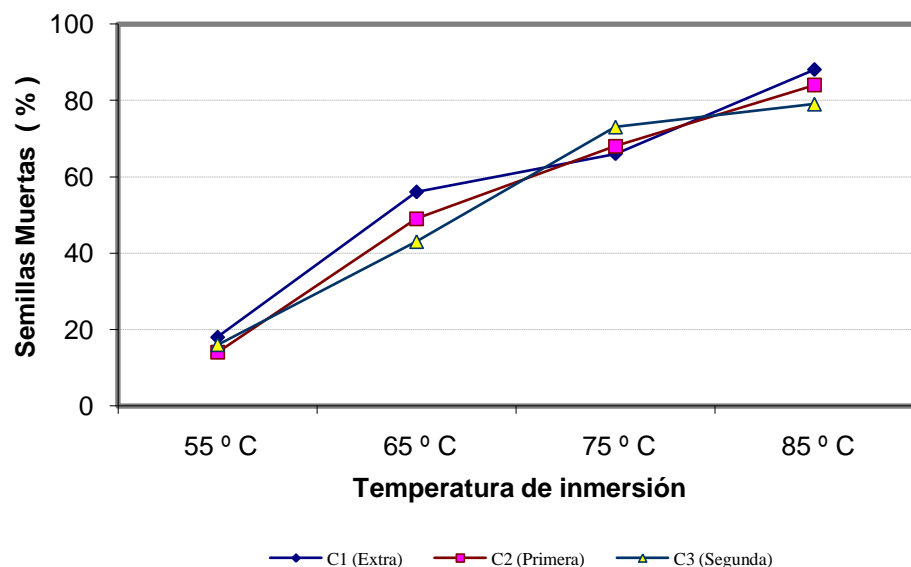


Figura 18. Interacción entre Temperaturas de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Muertas

5.4.3 Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre

Cuadro 16. Análisis de efectos simples para la interacción Tiempo por Calibre para el porcentaje de Semillas Muertas

Fuentes de Variación	GL.	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Efecto del Calibre de la semilla (C), entre cada Tiempo de inmersión (B1, B2, B3, B4)					
Efecto de C en B1 (5 Min.)	2	3.973589	1.986794	11.36	4.75 **
Efecto de C en B2 (10 Min.)	2	1.321244	0.660622	3.78	4.75 *
Efecto de C en B3 (20 Min.)	2	0.881386	0.440693	2.52	4.75 NS
Efecto de C en B4 (30 Min.)	2	0.058922	0.029461	0.17	4.75 NS
Efecto del Tiempo de inmersión (B), entre cada Calibre de semilla (C1, C2, C3)					
Efecto de B en C1 (Extra)	3	151.289820	50.429940	288.25	3.91 **
Efecto de B en C2 (Primera)	3	205.103869	68.367956	390.78	3.91 **
Efecto de B en C3 (Segunda)	3	181.486429	60.495476	375.78	3.91 **
Error Experimental	144	25.193041	0.174952		

GL= Grados de Libertad; SC = Suma de Cuadrados; CM = Cuadrado Medio; Fc = F calculado; Ft = F de Tablas; [**]= Altamente Significativo; [*]= Significativo; [NS]= No Significativo

En el cuadro 16, se observa que existen diferencias significativas en el efecto del calibre respecto al porcentaje de semillas muertas cuando se combinan con el primer tiempo B1

(5Min.), a su vez al combinar con el segundo tiempo B2 (10 Min.) se observa diferencias significativas, pero al combinarlos a 20 y 30 min. no se tienen diferencias significativas.

Por otro lado en el efecto de la temperatura en los calibres de la semilla se observan diferencias altamente significativas respecto al porcentaje de semillas muertas, en todas las combinaciones.

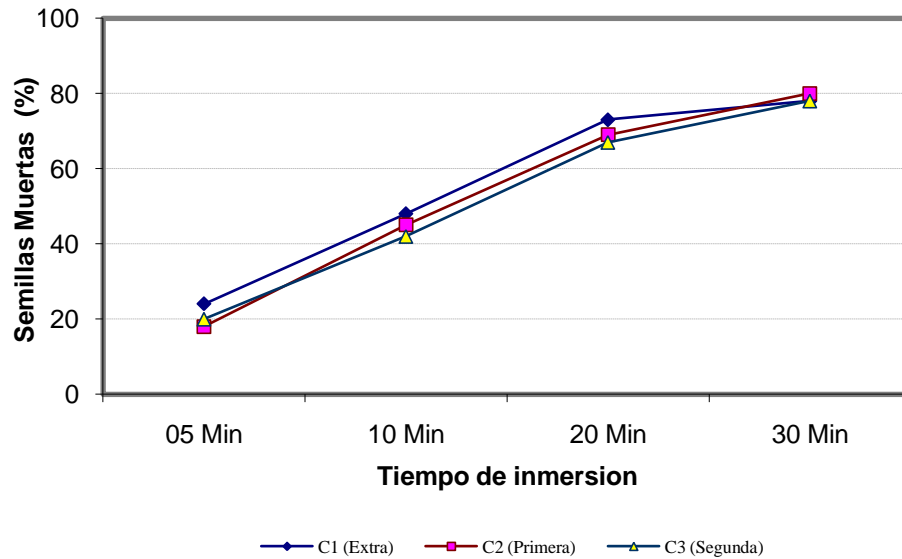


Figura 19. Interacción entre Tiempos de inmersión y Calibres, para el porcentaje de Semillas Muertas

En la figura 19, se observa que las combinaciones entre los factores tiempo por calibre no muestran diferencias significativas entre combinaciones para el porcentaje de semillas muertas, se puede distinguir que el porcentaje de semillas muertas va aumentando progresivamente a medida que se amplía el tiempo de inmersión, por lo que no se observan diferencias significativas entre calibres. También se puede distinguir que el calibre Extra en todas las combinaciones alcanza un porcentaje superior respecto del calibre Primera y Segunda.

VI CONCLUSIONES

- ❖ La mayoría de los tratamientos iniciaron la germinación dentro del tiempo establecido por las reglas del ISTA, ocho días, las variaciones estuvieron entre los siete y nueve días; hubo tratamientos en los que todas las semillas resultaron muertas.
- ❖ Se observó que las semillas respondieron mejor, tratadas a 55°C por 5min de inmersión, por otro lado es importante resaltar los resultados obtenidos a 65°C por 5 y 10 min, ambas combinaciones alcanzaron los porcentajes de semillas germinadas normales más altos, decreciendo esto conforme se aumentaba la temperatura y tiempo de inmersión.
- ❖ Entre las semillas germinadas normales se observó que a 75°C por 5min se alcanzó el porcentaje mínimo requerido (80%), lo que nos permite determinar el nivel de temperatura y tiempo que puede tolerar la semilla.
- ❖ Por su parte los calibres, respondieron en el siguiente orden: el calibre primera fue el que más resalto ya que respondió mejor a los tratamientos seguido del calibre segunda, sin embargo el calibre Extra obtuvo los menores porcentajes de germinación.
- ❖ Entre las semillas que germinaron anormalmente se observa que a 55°C por 30min se registran los mayores porcentajes; a 5, 10, y 20 min se registraron los mismos resultados desde el punto de vista estadístico.
- ❖ El calibre que registró mayores semillas germinadas anormales fue el Extra, entre los calibres de primera y segunda no se observaron diferencias ya que obtuvieron porcentajes similares estadísticamente.
- ❖ Las semillas tratadas a 65°C por 10 min registraron el mayor porcentaje de latencia; el calibre Extra fue el que mayor porcentaje registró y el calibre primera sigue un comportamiento normal, sin variaciones significativas.

- ❖ Las semillas no respondieron a los tratamientos que incluyeron los 85°C y 75°C a 20 y 30 min. de inmersión ya que registraron el 100% de pérdidas. Respecto a los calibre no se observan diferencias significativas entre interacciones ya que los porcentajes alcanzados son similares en los mismos rangos; esto se explica debido a que la semilla de haba presenta un alto porcentaje de proteínas las cuales se desnaturalizan a elevadas temperaturas y más aún si se prolonga el tiempo de exposición, considerando que las proteínas forman parte esencial de los compuestos de reserva de la semilla, por lo que la semilla no puede iniciar el proceso de germinación en su segunda fase.

- ❖ Las mayores pérdidas se debieron a contaminaciones con hongos (*Penicillium* y *Rhizopus*) debido a las condiciones dentro de la cámara de germinación, lo que se controló regulando el riego y reduciendo su frecuencia,

- ❖ Bajo este criterio se puede concluir que la temperatura determina el tiempo, que la semilla puede tolerar, al ser tratada con termoterapia, entonces los niveles con mejores respuestas son 65°C por 10min y 75°C por 5min, considerando trabajar con el calibre primera.

VII RECOMENDACIONES

- ❖ Tomando en cuenta los resultados obtenidos, sería recomendable utilizar las temperaturas (65 y 75°C) y tiempos (5 y 10Min) que lograron mejores resultados, considerando que en la Oficina Regional de Semillas Sucre: se realizaron trabajos similares (65°C por 10min) con la diferencia, que una vez concluido el tratamiento se procede a secar las semillas hasta alcanzar el 13% de humedad, estas semillas, una vez sembradas lograron porcentajes de germinación significativos.
- ❖ Es importante considerar que el calibre Extra requiere una menor densidad de siembra en bandejas, con respecto de los calibres Primera y Segunda.
- ❖ Si bien el calibre primera no alcanza los mayores porcentajes de germinación, registra un comportamiento proporcionado con respecto a porcentajes de semillas anormales, latentes y muertas, por lo que se recomendaría el uso de este, para posteriores trabajos.

VIII BIBLIOGRAFIA

AGRIOS G., (1991). Fitopatología. Programas educativos S.A. de CV México 756p.

ANDRADA M., (1997). Factores que contribuyen en la recuperación de plantas libres de virus. Curso teórico Práctico sobre micro propagación in Vitro de plantas. Laboratorio de biotecnología. Ministerio de agricultura y ganadería. Subsecretaría de estado de agricultura. Dirección de investigación agrícola. Instituto agronómico nacional. Caucupe – Paraguay sp.

AZCON-BIETO, J.; TALON, M. (2000). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Interamericana-McGraw-Hill, Madrid, España. Disponible en: <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/programa.htm>. (Accedido 20/08/2009), 5p.

BALDERRAMA F.; IRIATE V.; BAREA O.; IPORRE A.; CARRASCO E., (2001). Cadena Agroalimentaria del Haba de Altura para Exportación. Cochabamba, Bolivia. Fundación PROINPA. 70p.

BOX, J. M. (1961) Leguminosas de grano Ed. Revolucionaria Instituto del Libro Habana-Cuba 550p

CABALLERO W. (1975). Introducción a la estadística. Instituto interamericano de cooperación a la agricultura. IICA - Tercera reimpresión 1985. San José – Costa rica 289 p.

CALZADA, B. (1982). Métodos estadísticos para la investigación. Lima, Perú. Ed. Jurídica.

CRESPO, M. W. (1996). Haba (*Vicia faba* L) Leguminosas en la Agricultura Boliviana Cbba-Bolivia 178p.

FAO (1961) Producción, control y distribución. Las semillas agrícolas y hortícolas. FAO, estudios agropecuarios colección producción vegetal. Roma. 616 p.

HEBBLETHWAITE P. (1983). Producción moderna de semillas. Editorial hemisferio sur. Tomo I – II. Montevideo – Uruguay. 789 p.

HERBAS R. (1981). Manual de fitopatología. Editorial universitaria. Oruro – Bolivia. 444p.

HURTADO et al, (1994). Cultivo de tejidos vegetales. Editorial trillas. México 232p.

INE, (2004). INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA. Superficies Rendimientos y Producción del cultivo de haba. LP-Bol. p4

IBCE, (2007). INSTITUTO BOLIVIANO DE COMERCIO EXTERIOR Revista Exportemos N° 18 Publicación mensual segundo año p3

INE, (2005). INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA Bolivia Atlas Estadístico de Municipio La Paz-Bolivia pp7-8

IBTA, (1996). INSTITUTO BOLIVIANO DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA Y PROGRAMA NACIONAL DE LEGUMINOSAS DE GRANO (PNLG). Haba de exportación Cbba-Bolivia p6

IBTA, (1996). INSTITUTO BOLIVIANO DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA Y PROGRAMA NACIONAL DE LEGUMINOSAS DE GRANO (PNLG). Variedades de Haba Cbba-Bolivia p6

IBNORCA, (2002). INSTITUTO BOLIVIANO DE NORMALIZACION DE CALIDAD. NORMA BOLIVIANA 31 7001-02 “Leguminosas y hortalizas – habas secas – Requisitos”

ISTA, (2003). ASOCIACION INTERNACIONAL DE PRUEBAS DE SEMILLAS Guia del ISTA sobre evaluaciones de Plántula Tercera Edición 8303 Basserdorf, CH-Suiza sp.

JICA, (2006). AGENCIA DE COOPERACION INTERNACIONAL JAPONESA. El haba; Manual de producción del haba; Proyecto de desarrollo productivo y rural sostenible en el área de Achacachi. La Paz, Bolivia, 66 p.

LISAKOWSKI D., (2007). CURSO DE POST-GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN TECNOLOGÍA DE SEMILLAS (CBBA, BOL). Análisis de semillas. Universidad Federal de Pelotas (UFPEL); Programa Nacional de Semillas (PNS). Cochabamba, Bolivia. 54p.

LUCCA O., PIEROBOM C., (2007). CURSO DE POST-GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN TECNOLOGÍA DE SEMILLAS (CBBA, BOL). Patología de semillas. Universidad Federal de Pelotas (UFPEL); Programa Nacional de Semillas (PNS). Cochabamba, Bolivia. 66 p.

MACA, (2005). MINISTERIO DE ASUNTOS CAMPESINOS. El cultivo de haba Boletín técnico, La Paz-Bolivia pp7-8

MARINO A., RODRÍGUEZ P., (1975). Semillas. Departamento de agricultura de los Estados Unidos de América. Compañía editorial continental S.A. México.

ORS, (2001). OFICINA DE REGIONAL DE SEMILLAS LA PAZ, PROYECTO ACHACACHI, PREFECTURA LA PAZ Y JICA, Cartilla informativa para la producción de semilla de haba La Paz-Bolivia 15p

ORS, (2005). OFICINA DE REGIONAL DE SEMILLAS LA PAZ, PROYECTO ACHACACHI, PREFECTURA LA PAZ Y JICA, Producción de haba para consumo y semilla La Paz-Bolivia 48p

OCHOA R., (2007) DISEÑOS EXPERIMENTALES La Paz – Bolivia 298p.

OTERO M., (2007). CURSO DE POST-GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN TECNOLOGÍA DE SEMILLAS (CBBA, BOL). Fisiología de semillas. Universidad Federal de Pelotas (UFPEL); Programa Nacional de Semillas (PNS). Cochabamba, Bolivia. 82 p.

PESKE S., (2007). CURSO DE POST-GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN TECNOLOGÍA DE SEMILLAS (CBBA, BOL). Secado de semillas. Silmar Teichert Peske. Universidad Federal de Pelotas (UFPEL); Programa Nacional de Semillas (PNS). Cochabamba, Bolivia. 54p.

PIEROLA, L. , MENDOZA E. Y M. MILAN (1995). El rendimiento del haba en función de sus componentes, Memorias segunda reunión Nacional de Leguminosas de grano tercera reunión Bolivia de Rizobiología, Cochabamba-Bolivia 99p

REUNION NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA (5., 2007, BOLIVIA), (2007). Caracterización de síntomas virósicos en campo en el cultivo de haba a través de técnicas serológicas. Ed. por M. Céspedes. La Paz, Bol., Impreso en Centro de publicaciones de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales; UMSA. 66p.

SAAVEDRA J., (2006). Maya, Cartilla informativa para la producción de semilla de haba 17p.

WAAIJENBERG H., (1996). Las Leguminosas en la agricultura Boliviana. Proyecto de Rhizobiología de Bolivia, Cbba-Bolivia p99

WIKIPEDIA. (2008). Enciclopedia virtual. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/> (Accedido 10/08/2009), p. irr.

INFOAGRO (2008). <http://www.infoagro.gov.bo/haba/panorama.htm> (Accedido 10/08/2008), p. irr.

IX ANEXOS

Anexo 1. Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas germinadas normales

Temperatura	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
1 (55 °C)	74	A
2 (65 °C)	29	B
3 (75 °C)	10	C
4 (85 °C)	5	D

Tiempo	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
1 (05 min.)	68	A
2 (10 min.)	27	B
3 (20 min.)	11	C
4 (30 min.)	7	D

Calibre	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
3 (Segunda)	26	A
2 (Primera)	24	A
1 (Extra)	22	D

Anexo 2. Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas germinadas anormales

Temperatura	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
2 (65 °C)	6	A
1 (55 °C)	4	B
3 (75 °C)	4	B
4 (85 °C)	4	B

Tiempo	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
4 (30 min.)	7	A
2 (10 min.)	5	B
1 (05 min.)	4	C
3 (20 min.)	4	C

Calibre	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
1 (Extra)	6	A
3 (Segunda)	4	B
2 (Primera)	4	B

Anexo 3. Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas latentes

Temperatura	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
2 (65 °C)	6	A
4 (85 °C)	5	B
3 (75 °C)	5	B
1 (55 °C)	4	C

Tiempo	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
4 (30 min.)	6	A
2 (10 min.)	6	A
1 (05 min.)	5	B
3 (20 min.)	5	B

Calibre	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
3 (Segunda)	6	A
1 (Extra)	5	B
2 (Primera)	4	C

Anexo 4. Prueba de medias Duncan para el porcentaje de semillas muertas

Temperatura	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
4 (85 °C)	83	A
3 (75 °C)	69	B
2 (65 °C)	49	C
1 (55 °C)	16	D

Tiempo	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
4 (30 min.)	79	A
3 (20 min.)	69	B
2 (10 min.)	45	C
1 (05 min.)	20	D

Calibre	Germinadas Normales (%)	Duncan (Prob. 1%)
1 (Extra)	53	A
2 (Primera)	50	B
3 (Segunda)	49	C

Anexo 5. Reglas ISTA para la evaluación de plántulas de especies del género *Vicia*.

Según la reglas ISTA, el género *Vicia* está clasificada dentro de las plántulas del tipo G.

A – 2 – 2 – 2 – 2

Dicotiledóneas

Con germinación Hipogea

Con crecimiento del epicótilo

La raíz primaria puede ser reemplazada por raíces secundarias

Género: ***Vicia***

Parte de la plántula que crece hacia la luz y cambia a verde es el epicótilo con las hojas primarias.

Los embriones de la semilla del género de este grupo, tiene dos grandes y carnosos cotiledones, conteniendo reservas de alimento. Los cotiledones están ligados a un eje embrionario con radícula y plúmula.

❖ **Plántulas normales**

Plántulas como un entero

Todas las estructuras esenciales

Normales como se detalla enseguida

Sistema de raíz

Está **intacta**

ó

La raíz primaria

Muestra **defectos** aceptables:

- Decoloración o puntos necróticos
- Partiduras y rajaduras cicatrizadas
- Partiduras y rajaduras superficiales

Una plántula con una raíz primaria defectuosa es clasificada como normal si tiene desarrolladas suficientes raíces secundarias.

Sistema de rebrote

Están **intactos**

ó

Los cotiledones

Muestran **defectos** aceptables:

- Al menos el 50% de los tejidos están funcionando normalmente
- Solamente un cotiledón intacto
- Tres cotiledones

-
- Está **intacto**
ó
Muestran **defectos** aceptables
- El epicótilo
- Decoloración o puntos necróticos
 - Partiduras o rajaduras cicatrizadas
 - Partiduras ¹ ó rajaduras superficiales
 - Torceduras sueltas
-

El brote Terminal Está **intacto**

.....

Las hojas primarias Están **intactas**
(Hasta donde ellas ó
han desarrollado) Muestran al menos 50% de los tejidos
funcionando normalmente

.....

❖ Plántulas anormales

Plántula como un entero

- Es **anormal** sí:
- Está deformada
 - Está fracturada
- La plántula
- Consiste de plántulas gemelas fusionadas
 - Está hilada ó vítrea
 - Está deteriorada como resultado de infección primaria
-

Una ó más de las Son **anormales**, como se detalla en lo siguiente:
Estructuras esenciales

.....

Sistema de raíz

- Es **defectuosa** sí:
- Está enana o achaparrada
 - Está retardada
 - Está perdida
 - Está rota
- La raíz primaria
- Está rajada desde la punta
 - Está atrapada en la cubierta¹ de la semilla
 - Muestra geotropismo negativo
 - Está contraída
 - Está hilada ó vítrea
 - Está deteriorada como resultado de infección primaria
-

Una plántula con una raíz primaria defectuosa es clasificada como normal, sí tiene desarrolladas suficientes raíces secundarias.

Sistema de rebrote

- Los cotiledones
- Están **defectuosos** si ellos:
- Son defectuosos en extensión, cuando menos de un 50% del tejido original(ó tejido estimado) esta normalmente funcionando
 - Están deformados
 - Están rotos o dañados de otra forma (Ej. Por insectos)
 - Están descoloridos o necróticos
 - Están deteriorados como un resultado de infección primaria

Debe presentarse atención a las señales de decaimiento en el punto de soldadura de los cotiledones con el eje de la plántula. Tal decaimiento de cómo resultado plántula anormal.

¹ Una plántula con raíz primaria atrapada en la cubierta de la semilla es considerada normal, sí al final de la prueba la punta de la raíz se encuentra fuera de la cubierta de la semilla.

- El epicótilo
- Está **defectuoso** sí:
- Está demasiado corto y grueso
 - Está profundamente rajado o roto¹
 - Está hendido derecho de uno al otro lado
 - Está perdido
 - Está encorvado o formando un lazo
 - Está formando una espiral
 - Está ligeramente torcido
 - Está contraído
 - Está hilado ó vítreo
 - Está podrida como resultado de una infección primaria

Brote Terminal Está **defectuoso** ó perdido

- Las hojas primarias (Tan lejos como ellas hayan desarrollado)
- Están **defectuosas** sí ellas:
- Están **defectuosos en su extensión, menos que 50%** del área original de la hoja (ó área estimado) esta normalmente funcionando
 - Están deformados
 - Están dañados
 - Están separados o perdidos
 - Están descoloridos
 - Están necróticos
 - Está podrido como un resultado de infección primaria

La plántula puede ser clasificada como anormal, sí el brote Terminal o rebrote están defectuosos, aunque los rebrotes auxiliares hayan desarrollado.

Observaciones suplementarias Ninguna