



**UNIVERSIDAD DE SANCTI SPÍRITUS “JOSÉ MARTÍ PÉREZ”**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA**



# **TRABAJO DE DIPLOMA**

UTILIZACIÓN DE DIFERENTES SUSTRATOS Y TIEMPOS DE INMERSIÓN EN EL INCREMENTO DE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Autora: Evelyn Marquez Romeu

**Sancti Spíritus, 2016.**

**“Año 58 de la Revolución”**



**UNIVERSIDAD DE SANCTI SPÍRITUS “JOSÉ MARTÍ PÉREZ”**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA**



# **TRABAJO DE DIPLOMA**

UTILIZACIÓN DE DIFERENTES SUSTRATOS Y TIEMPOS DE INMERSIÓN EN EL INCREMENTO DE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Autora: Evelyn Marquez Romeu

Tutor: MSc. *Alexander Calero Hurtado*.

**Sancti Spíritus, 2016.**

**“Año 58 de la Revolución”**

**Pensamiento.**

*Sin una agricultura fuerte y eficiente que podemos desarrollar con los recursos de que disponemos, sin soñar con las grandes asignaciones de otros tiempos, no podemos aspirar a sostener y elevar la alimentación de la población, que tanto depende todavía de importar productos que pueden cultivarse en Cuba.*

*Raúl Castro Ruz*

**Dedicatoria.**

Dedico los resultados de mi tesis a mi familia: en especial a mi madre y a mi padre, a Ignacio que han sido capaces de apoyarme incondicionalmente por siempre, transmitirme la energía positiva y las fuerzas para llevar a término mi carrera., a mi abuela Blanca por ser mi segunda madre y estar a mi lado cuando lo necesitaba, a mi abuelo Roberto, que, aunque hoy no está presente físicamente, sé que está orgulloso porque a pesar de las vicisitudes afrontadas e culminado mi tesis.

Gracias a todos los amigos y familiares que siempre estuvieron presentes.

## **Agradecimientos.**

Mis agradecimientos para mi tutor: Alexander Calero, por la confianza y la disponibilidad que me ha demostrado durante el trabajo de investigación, porque me permitió importantes experiencias en el trabajo de laboratorio en la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”. Gracias a todos los profesores de la carrera de Agronomía por haberme consentido pertrecharme de nuevos conocimientos a lo largo de la carrera.

Agradecer especialmente a mis compañeros de estudio por vivir junto a ellos momentos de gran satisfacción y sobre todo tener buenos amigos.

## **Síntesis.**

Esta investigación se desarrolló en el laboratorio Agropecuario III, de la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez” durante los meses de noviembre de 2015 a enero de 2016, con el objetivo de determinar el efecto de diferentes sustratos y diferentes tiempos inmersión en el máximo potencial de germinación de un lote de semillas de frijol común. Para ello se utilizaron muestras de semillas botánicas de la variedad Bat-304, obtenidas de un productor asociado a la CCS “Mártires de Taguasco”. Se realizaron cuatro experimentos con diferentes sustratos como papel de filtro, arena sílice, arena de río y humus de lombriz y diferentes tiempos de inmersión de 30, 60, 120 y 180 min y control sin inmersión (semillas secas). Los experimentos se distribuyeron diseños completamente aleatorizados, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, en placas petris de 8,5 cm de diámetros. Las principales variables observadas y determinadas fueron la potencia germinativa, el tiempo medio de germinación, la velocidad de germinación, el vigor germinativo y la masa y longitud del hipocótilo. Los resultados mostraron que la utilización de diferentes sustratos y tiempos inmersión de las semillas de un lote de frijol común tuvieron un efecto positivo en el máximo potencial de germinación y los mejores tiempos de inmersión fueron 60, 120 y 180 minutos cuando se utilizaron los sustratos de arena de río y humus de lombriz porque lograron valores de potencia germinativa superiores a 94%, altos coeficientes de uniformidad de germinación y las mayores masas y longitud promedio del hipocótilo.

## Synthesis

This investigation was developed in the Agricultural laboratory III, of the University of Sancti Spíritus "José Martí Pérez" during the months of November of 2015 to January of 2016, with the objective of determining the effect of different substrata and different times immersion in the potential maximum of germination of a lot of seeds of common bean. For they were used it samples of botanical seeds of the variety Bat-304, obtained of a producer associated to the collective farmer "Martires de Taguasco", it's were carried out four experiments with different substrate like filter paper, sand silica, river sand and worm humus and different times of immersion of 30, 60, 120 and 180 min and control without immersion (dry seeds). The experiments totally randomized designs were distributed, with five treatments and four repetitions, in badges petri dish of 8,5 cm of diameters. The main observed variables and certain they were the germinate power, the half time of germination, the germination speed, the germinate vigor and the mass and longitude of the hypocotyl. The results showed that the use of different substrata and times immersion of the seeds of a lot of common bean had a positive effect in the potential maximum of germination and the best times of immersion were 60, 120 and 180 minutes when the substrata of river sand and worm humus were used because they achieved values of power germinate superiors to 94%, high coefficients of germination uniformity and the biggest masses and longitude average of the hypocotyl.

## Índice.

<b>CONTENIDO.</b>	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>1</b>
<b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.</b>	
1.1. <i>Generalidades de las semillas</i>	<b>4</b>
1.2. <i>Recursos fitogenéticos.</i>	<b>5</b>
1.3. <i>Clasificación en función de su tolerancia a la desecación.</i>	<b>6</b>
1.4. <i>Germinación y sus fases.</i>	<b>7</b>
1.5. <i>Factores que afectan la germinación.</i>	<b>10</b>
1.6. <i>Dormancia o latencia de las semillas</i>	<b>12</b>
1.7. <i>Sustratos utilizados en la germinación de las semillas</i>	<b>13</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	
2.1. <i>Ubicación y localización del experimento</i>	<b>16</b>
2.2. <i>Características de los experimentos</i>	<b>16</b>
2.3. <i>Materiales</i>	<b>16</b>
2.4. <i>Experimentos.</i>	<b>17</b>
2.5. <i>Determinación de las diferentes variables.</i>	<b>19</b>
2.6. <i>Procesamiento estadístico.</i>	<b>21</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</b>	
3.1. <i>Comportamiento de la masa de las semillas.</i>	<b>22</b>
3.2. <i>Comportamiento del porcentaje acumulado y la potencia germinativa.</i>	<b>23</b>
3.3. <i>Comportamiento de la masa y longitud del hipocótilo.</i>	<b>33</b>
<b>4. CONCLUSIONES.</b>	<b>36</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.</b>	<b>37</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>38</b>

## **Introducción.**

El cultivo de plantas leguminosas es de gran importancia en la alimentación humana, debido a la producción de granos ricos en proteínas, grasas, carbohidratos, energía, minerales y vitaminas, indispensables en la dieta diaria, por lo cual se les ha llamado “la carne de los pobres”. Su consumo se combina con otros alimentos como los cereales, las raíces y tubérculos, desde épocas remotas, ya que los contenidos nutricionales que faltan en un grupo se complementan con el otro, dando un alimento nutricional completo. Aunado a lo anterior, es conocida la asociación de las raíces de las plantas leguminosas con bacterias rizobianas, las cuales fijan el nitrógeno atmosférico, enriqueciendo los suelos y favoreciendo la sostenibilidad ambiental.

Estas plantas están unidas al hombre desde sus orígenes, idiosincrasia, creencias, cultura; manifestado en textos antiguos como la Biblia, Historia de China, hallazgos en México y hasta en los estudios de Mendel, los cuales fueron la base de la ciencia de la genética (Penichet *et al.*, 2006).

Estos mismos autores plantearon que las leguminosas pertenecen a la familia *Fabaceae*; grupo de plantas con especies ornamentales, oleaginosas, frutales, medicinales, de confites, de alimentación animal y alimentación humana. Entre estas últimas, las que más se consumen y producen son el frijol común (caraota) (*Phaseolus vulgaris* L.), la habichuela (*Vigna unguiculata* L. Walp), el quinchoncho (*Cajanus cajan* L. Millps) y la arveja (*Pisum sativum* L.).

El frijol común, es la especie más conocida en Latinoamérica y es la más consumida en la alimentación humana. Esta planta es originaria de América. Se han señalado dos acervos genéticos o centros de origen; uno en Mesoamérica y el otro en América Andina (Voysest, 2000). El primer centro se caracteriza, principalmente, por poseer semillas de forma elíptica y romboide, pequeñas con masa de 100 semillas menor a 40 g. Entretanto que el centro América Andina produce semillas de forma cilíndrica, arriñonada y redonda, y con masa de 100 semillas mayor a 40 g. En ambos acervos, las semillas presentan colores variados desde blanco hasta negro y con rayas o combinación de colores (Hamayun *et al.*, 2010).

En la naturaleza, la semilla es una fuente de alimento básico para muchos animales. También, mediante la producción agrícola, la semilla es esencial para el ser humano, cuyo alimento principal está constituido por semillas, directa o indirectamente, que sirven también de alimento para varios animales domésticos. Las semillas pueden almacenarse vivas por largos períodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas (Paredes, 2007).

Un evento esencial dentro de la biología de las semillas es la germinación, proceso en el que ocurren cambios fisiológicos en su interior cuando se rompen las barreras que permiten la difusión del agua y los gases respiratorios. En la mayoría de las semillas, la germinación termina con la emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales.

Para que una semilla germine se requieren ciertas condiciones favorables de humedad, temperatura, luz y oxígeno; cuando una semilla viva no germina en condiciones favorables se considera que esta en estado latente (Montes de Gómez, 1990).

Entre las variables ambientales que afectan el crecimiento y el desarrollo de estas plantas se puede citar la deficiencia de agua, como una de las más importantes, debido a que afecta negativamente un grupo numeroso de procesos morfo-fisiológicos y bioquímicos importantes (Domínguez *et al.*, 2012), tales como la fotosíntesis, la respiración, el metabolismo de los carbohidratos y de los nutrientes, la entrada de iones a la planta y la síntesis de promotores del crecimiento (Farooq *et al.*, 2008). Se ha estimado que el estrés hídrico reduce en un 60 % la producción mundial de granos de frijol (Porch *et al.*, 2009).

Los estudios bioquímicos de semillas después de tratamientos magnéticos muestran un incremento en la actividad de  $\alpha$  amilasa, lo que indica un incremento en la producción de la hormona vegetal giberelia y la actividad de la enzima hidrolítica fosfatasa acida (Staselis y Duchovskis, 2004).

Para que la semilla cumpla con su objetivo, es necesario que el embrión se transforme en una plántula, que sea capaz de valerse por sí misma y finalmente convertirse en una planta adulta. Todo ello comprende una serie de procesos metabólicos y morfo genéticos, cuyo resultado final es la germinación de la semilla. La germinación es el reinicio del crecimiento del embrión, paralizado durante las fases finales de la maduración. Los procesos

fisiológicos de crecimiento exigen actividades metabólicas aceleradas y la fase inicial de la germinación consiste primariamente en la activación de los procesos por aumento en la humedad y actividad respiratoria de la semilla (Peretti, 1994).

En Cuba no existen áreas determinadas a la producción de semillas de frijol común, por lo que muchos productores se ven obligados a guardar sus propias semillas de una campaña a otra, otros la compran o la obtienen de estos productores y otra gran parte utilizan las semillas compradas a productores por la empresa de semillas del territorio, resumiendo que no conocen la verdadera calidad de sus semillas lo que contribuye a siembras con predominio de bajas densidades de plantas y con ello bajos rendimientos.

### **Problema científico**

¿Qué efecto provoca la utilización de diferentes sustratos y tiempos de inmersión en el incremento de la germinación de semillas de frijol común?

### **Hipótesis.**

La utilización de diferentes sustratos y tiempos de inmersión de un lote de semillas de frijol común permitirá obtener un incremento de la germinación de las semillas de frijol común con un mejor crecimiento inicial de las plantas de este cultivo.

### **Objetivo general.**

Determinar el efecto de diferentes sustratos y tiempos de inmersión en el incremento de la germinación de las semillas de frijol común.

## **1. Revisión Bibliográfica.**

### **1.1. Generalidades de las semillas.**

Definición. La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, regeneración de los bosques y sucesión ecológica (Rao *et al.*, 2007). En la naturaleza, la semilla es una fuente de alimento básico para muchos animales. También, mediante la producción agrícola, la semilla es esencial para el ser humano, cuyo alimento principal está constituido por semillas, directa o indirectamente, que sirven también de alimento para varios animales domésticos. Las semillas pueden almacenarse vivas por largos períodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas (Paredes, 2007 y Van Treuren *et al.*, 2013).

La semilla es una unidad reproductiva compleja, característica de las plantas vasculares superiores, que se forma a partir del óvulo vegetal, generalmente después de la fertilización (Farooq *et al.*, 2009). Para que la semilla cumpla con su objetivo, es necesario que el embrión se transforme en una plántula, que sea capaz de valerse por sí misma y finalmente convertirse en una planta adulta. Todo ello comprende una serie de procesos metabólicos y morfo genéticos, cuyo resultado final es la germinación de la semilla.

La formación, dispersión y germinación de semillas, son eventos fundamentales en el ciclo de vida de las plantas gimnospermas y angiospermas. La propagación sexual de las plantas se da por medio de las semillas, las cuales tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie (Nieto *et al.*, 2010). Las semillas son estructuras complejas que consisten, en general, en: i) El embrión, que es el producto de la fusión entre el óvulo con el núcleo espermático. ii) El endospermo que provee de nutrientes al embrión para el desarrollo y el crecimiento de la plántula. Algunas excepciones, por ejemplo, las flores de las labiadas producen frutos indehiscentes llamados núculas, que internamente contienen a la semilla, la cual nunca se libera ni se separa de la pared del ovario que la protege, estas semillas no presentan endospermo. iii) La testa de la semilla formada externamente

por los integumentos que representan los tejidos maternos del óvulo (Finch y Leubner, 2006).

La semilla es esencial para la supervivencia de la humanidad, por cuanto almacena el más alto potencial genético que la ciencia pudiera llegar a desarrollar y es un elemento vital en la agricultura moderna, la semilla certificada contribuye a alcanzar una producción más alta (Sayar *et al.*, 2010). La germinación, la pureza y la sanidad son los tres criterios de la calidad de semilla que están bien establecidos y los cuales son determinados por pruebas de rutinas en estaciones de pruebas de semilla. Las pruebas han sido hechas para mejorar la calidad de la semilla en el comercio y los métodos de producción de semillas han sido mejorados para reunir los estándares impuestos por ellos. Los lotes de semillas pasando las pruebas serían de una alta calidad y emergerían seguramente en el campo, pero esto no necesariamente es así y el vigor de la semilla ha aparecido como un cuarto aspecto de calidad el cual es importante en el contexto del rendimiento en el campo (Lagiere, 1969, Engelmann, 2009).

## **1.2. Recursos fitogenéticos.**

Los recursos fitogenéticos son la suma de todas las combinaciones de genes resultantes de la evolución de una especie vegetal. Comprenden desde especies silvestres con potencial agrícola hasta genes clonados. El término implica que el material tiene o puede tener valor económico o utilitario, actual o futuro y para ello el hombre debe conocerlos, manejarlos, mantenerlos y utilizarlos racionalmente. La gran riqueza de diversidad genética actualmente disponible encierra potencialidades inmensas, sin embargo, los recursos genéticos no son renovables, son vulnerables; se pueden erosionar y hasta desaparecer (Hidalgo, 2003; Engelmann, 2011).

La percepción de la erosión genética como un problema a escala planetaria no tuvo lugar hasta bien entrado el siglo XX. Las señales de alarma comenzaron a tomarse en serio a mediados de los años sesenta, al descubrirse que el alto ritmo de desplazamiento de variedades primitivas cultivadas por la introducción de nuevos cultivares estaba llevando a un rápido estrechamiento de la base genética de las especies cultivadas (Dodds, 1991; Maxted *et al.*, 1997; Zevallos *et al.*, 2013). La toma de conciencia de esta situación

determinó la puesta en marcha de medidas para la conservación de los recursos fitogenéticos (Khoury *et al.*, 2010).

La reducción de la diversidad significa, por un lado, menor capacidad de resistencia y adaptación a cambios climáticos y plagas (Gepts, 2006); por el otro, una reducción de las posibilidades de mejora de la productividad a través de mezclas de genes. Ante esta situación, la conservación de la biodiversidad es estratégica para satisfacer las demandas crecientes de la población mundial (FAO, 2009).

### **1.3. Clasificación en función de su tolerancia a la desecación.**

Todas las semillas difieren en su tolerancia a la desecación que sigue tras su diseminación. Según este parámetro, las semillas se pueden clasificar en ortodoxas, recalcitrantes e intermedias. Las semillas ortodoxas toleran una deshidratación hasta de 5% en el contenido de humedad; por su parte, las semillas que toleran la deshidratación entre 10% y 12,5% de contenido de humedad se consideran intermedias y las que toleran la deshidratación entre 15% y 50% de humedad se denominan recalcitrantes (Rao *et al.*, 2007).

#### **1.3.1. Semillas ortodoxas.**

La principal característica fisiológica de las semillas ortodoxas es su gran tolerancia a la deshidratación. Su fase final de maduración está acompañada por deshidratación celular, la cual inicia con la pérdida del suministro vascular de agua de la planta madre a la semilla (Rajjou *et al.*, 2012). En este período las semillas adquieren la tolerancia para ceder a la deshidratación, característica que mejora su viabilidad y el potencial de almacenamiento (Bacchetta *et al.*, 2008). Por tratarse de un método práctico y económico, el almacenamiento de semillas ortodoxas es el preferido para conservar el 90% de los seis millones de accesiones mantenidos en colecciones *ex situ* en todo el mundo. La mayoría de las especies cultivables, las especies forrajeras, y muchas especies arbóreas producen este tipo de semilla (Rao *et al.*, 2007; Walters *et al.*, 2010).

#### **1.3.2. Semillas recalcitrantes.**

Las semillas recalcitrantes no experimentan deshidratación en la planta madre y, sin

detener su desarrollo, pasan directamente a la germinación, aun cuando ocurren algunos casos de latencia (Berjak y Pammenter, 2004). Al contrario de las semillas ortodoxas, las semillas recalcitrantes se diseminan en una condición húmeda y metabólicamente activa (Lobo y Medina, 2009), perdiendo rápidamente su capacidad de germinación al quedar expuestas a condiciones de baja humedad. Adicionalmente, muchas semillas recalcitrantes de origen tropical son sensibles al frío y no pueden ser almacenadas a temperaturas inferiores a 15°C. La sensibilidad a la deshidratación y a temperaturas bajas prolongadas implica limitaciones graves para el almacenamiento comercial a largo plazo de las semillas recalcitrantes (Berjak *et al.*, 2011).

### **1.3.3. Semillas intermedias.**

Algunas especies, como la palma datilera silvestre *Phoenix reclinata* (Berjack y Pammenter, 2004) producen semillas con características intermedias entre ortodoxas y recalcitrantes. La habilidad para germinar de estas semillas depende del grado de tolerancia a la pérdida de agua, al tiempo y las condiciones de almacenamiento. Entre los cultivos indicativos con semillas que pueden presentar conducta de almacenamiento intermedio se encuentra el ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) y *Coffea sp.* (Eira *et al.*, 2006).

### **1.4. Germinación y sus fases.**

La germinación es el reinicio del crecimiento del embrión, paralizado durante las fases finales de la maduración. Los procesos fisiológicos de crecimiento exigen actividades metabólicas aceleradas y la fase inicial de la germinación consiste primariamente en la activación de los procesos por aumento en la humedad y actividad respiratoria de la semilla (Doria, 2010).

La germinación de una semilla en una prueba de laboratorio es la emergencia y desarrollo de la plántula hasta una etapa donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no capaz de desarrollarse en una planta bajo condiciones favorables en el suelo. Mientras que el porcentaje de semilla reportado sobre el Certificado de Análisis indica la proporción del número de semillas que han producido plántulas clasificadas como normales bajo las condiciones y dentro de un periodo especificado para cada especie. Las siguientes estructuras son esenciales para el desarrollo continuado de una plántula hacia

una planta satisfactoria: sistema radical (raíz primaria, en ciertos casos raíces seminales), eje del tallo (hipocótilo, epicótilo; en ciertas gramíneas mesocótilo), cotiledones, yemas terminales y coleóptilo (ISTA, 2005).

La absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos que incluye la respiración, síntesis proteica y 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 (Finch y Leubner, 2006). Sin embargo, las semillas de muchas especies son incapaces de germinar, aun cuando presentan condiciones favorables para ello, lo cual se debe a que se encuentran en estado de latencia o dormancia (Maarouf y Bailly, 2008). Por ello, mientras no se den las condiciones adecuadas para la germinación, la semilla se encontrará en estado latente durante un tiempo variable, dependiendo de la especie, hasta que en un momento dado pierda su capacidad de germinar (Chong *et al.*, 2002; Copete *et al.*, 2011).

Según Koornneef *et al.* (2002) la germinación de las semillas comprende de tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente, estas fases son:

*Imbibición*: es una consecuencia de las fuerzas mátricas de las paredes y contenidos celulares de la semilla, esta absorción ocurre sin considerar si la semilla posee o no latencia y/o es o no viable. La absorción de agua es el primer paso para la germinación, sin el cual el proceso no puede darse. Durante esta fase se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria (Bewley y Black, 1983).

En el proceso de absorción de agua por semillas embebidas bajo condiciones comunes de laboratorio, por ejemplo, agua aplicada sobre una o más capas de papel de filtro humedecido en cápsulas de Petri. Aquí una proporción favorable de la superficie de la semilla está en contacto con el medio acuoso (el cual es a menudo agua destilada) y así la impedancia ( $Y$ ) externa (contacto) y la impedancia interna de la matriz ( $y_1$ ) son más o menos eliminadas. La germinación óptima sobre el papel de filtro requiere una cantidad

adecuada de agua, poca humedad crea impedancias externas e internas y demasiada humedad puede restringir la difusión del oxígeno dentro de la semilla. El patrón inicial de absorción de agua, el cual puede ser común a muchas si no todas las semillas están afectadas por tres características: 1) un frente agudo separando las porciones húmedas y secas de la semilla; 2) Absorción continua a medida que el agua alcanza nuevas regiones y 3) un incremento en el contenido de agua de las áreas humedecidas. La absorción de agua puede no ocurrir eventualmente sobre la totalidad de la superficie de una semilla intacta. En un número de semillas hay, al menos inicialmente, una mayor absorción a través del micrópilo que a través del resto de la testa (por ejemplo, en especies de *Vicia* y *Phaseolus*) (Bewley y Black, 1983).

*Germinación:* es el período de retraso de absorción de agua, cuando el potencial mátrico es alto (menos negativo), como es el potencial osmótico o de soluto. Semillas muertas y latentes mantienen este nivel de típica hidratación de esta fase y representa el verdadero proceso en el que se producen las transformaciones metabólicas necesarias para el completo desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse (Bewley y Black, 1983).

*Crecimiento:* es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible). Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria y está asociada con la protrusión de la radícula. Las longitudes de cada una de estas fases dependen de ciertas propiedades inherentes de las semillas (contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta de las semillas, absorción de oxígeno, tamaño de la semilla, etc) y de las condiciones durante la exposición al agua (por ejemplo, niveles de humedad, composición del sustrato, temperatura, etc, (Bewley y Black, 1983).

La duración de cada una de estas fases depende de ciertas propiedades de las semillas: su contenido de compuestos hidratables y la permeabilidad de las cubiertas al agua y oxígeno y a las condiciones del medio, tales como el nivel de humedad, las características y composición del sustrato, la temperatura, entre otros (Doria, 2010):

Para que la germinación ocurra, deben satisfacerse determinadas condiciones. La semilla

debe ser viable, las condiciones ambientales para la germinación deben ser favorables: agua, temperatura, oxígeno y luz, la semilla debe estar libre de dormancia y las condiciones de sanidad deben ser satisfactorias (ausencia de agentes patógenos) (Baskin y Baskin, 2001).

Para los tecnólogos de semillas la viabilidad se refiere a la capacidad de la semilla para germinar y generar plántulas normales; mientras que desde la perspectiva fisiológica se refiere a si la semilla contiene o no cualquier tejido con actividad metabólica, y si posee reservas energéticas y enzimas para el funcionamiento de las células de la planta (Allendorf *et al.*, 2013).

### **1.5. Factores que afectan la germinación.**

Se dividen en dos tipos; factores internos y factores externos (Doria, 2010):

#### **1.5.1. Factores internos**

Madurez de la semilla. Cuando ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico. La madurez morfológica se consigue cuando las distintas estructuras de las semillas se han completado, dándose por finalizada cuando el embrión ha alcanzado su máximo desarrollo. Aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar, porque necesitan experimentar aún una serie de transformaciones fisiológicas (Alzugaray *et al.*, 2007).

Viabilidad de la semilla. Es el período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un período variable y depende del tipo de semilla y las condiciones de almacenamiento. Puede haber semillas que germinen después de decenas o centenas de años (Roos, 1986). Una semilla será más longeva cuando menos activo sea su metabolismo en las condiciones de almacenamiento. Esto a su vez origina una serie de productos tóxicos, que al acumularse en las semillas produce efectos letales para el embrión (Maarouf y Bailly, 2008).

#### **1.5.2. Factores externos.**

*Humedad:* la absorción de agua es el primer paso y el más importante que tiene lugar

durante la germinación, porque para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos. La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que le rodea. Hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal, siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico. La toma de agua por la semilla es trifásica, con una absorción inicial rápida (fase I) seguida por una fase de meseta (fase II), donde ocurre la germinación. En la fase III se produce un incremento adicional en la toma de agua después de completada la germinación. La toma de agua rápida responde a leyes físicas, y se produce, aunque la semilla está muerta (Leubner, 2003). Aunque es necesaria la rehidratación para la germinación de las semillas, un exceso de agua actuaría desfavorablemente, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión.

**Temperatura.** Es un factor decisivo en el proceso de germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. Por ello, las semillas solo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. La temperatura óptima es aquella donde se alcanza el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible (Ramón y Mendoza, 2002).

**Gases.** La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado, que permita una adecuada disponibilidad de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. De esta forma, el embrión obtiene la energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas. Para que la germinación tenga éxito, el O<sub>2</sub> disuelto en el agua de imbibición debe poder llegar hasta el embrión (Ramón y Mendoza, 2002).

**Luz.** Un lote de una variedad puede contener semillas que requieran luz para germinar, mientras otras semillas en el mismo lote son indiferentes a este factor (Hunter, 2011). En variedades fotodormantes de tabaco, que no germinan en la oscuridad, la cubierta y el endospermo permanecen intactos. Sin embargo, cuando la cubierta y el endospermo son removidos mecánicamente hay una emergencia de la radícula en ausencia de la luz. La ruptura de la fotodormancia y la promoción de la germinación de semillas que requieren luz, es regulada por el sistema de fitocromos.

## **1.6. Dormancia o latencia de las semillas.**

La dormancia o latencia es el estado en el cual una semilla viable no germina, aunque se coloque en condiciones de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para hacerlo. De ello se deduce que las semillas pueden mantener su viabilidad durante largos períodos de tiempo. Esta es una de las propiedades adaptativas más importantes que poseen los vegetales. Gracias a ello, las semillas sobreviven en condiciones desfavorables y adversas, aunque no indefinidamente (Roos, 1986).

La salida del estado de latencia requiere, en determinados casos, algunos estímulos ambientales, tales como luz o bajas temperaturas. En otros casos, las gruesas cubiertas seminales de las semillas constituyen una barrera impermeable al agua y a los gases o ejercen una resistencia física a la expansión de la radícula, que impide la germinación. La presencia de inhibidores de la germinación es otro de sus condicionantes (Engels y Visser, 2007).

### **1.6.1. Tipos de dormancia**

Baskin y Baskin (2004) desarrollaron un sistema de clasificación basado en cinco tipos generales de dormición:

1. Fisiológica. Desarrollo reducido del embrión, que no consigue rebasar el impedimento mecánico de las cubiertas de la semilla (o del fruto).
2. Morfológica. Embrión pequeño diferenciado (pero poco desarrollado) o no diferenciado. En este caso el periodo de dormición corresponde al tiempo que el embrión necesita para crecer.
3. Morfofisiológica. Combinación de un embrión no desarrollado (o indiferenciado) y fisiológicamente durmiente.
4. Física. La cubierta de la semilla (o fruto) posee una capa impermeable que no permite la absorción de agua.
5. Combinatoria (física + fisiológica). Semilla impermeable con embrión fisiológicamente durmiente.

Algunas semillas poseen sistemas de germinación complejos, los cuales implican muchas veces una combinación de los diversos tipos de dormición. Si durante el ensayo de germinación, o después de la siembra, las semillas no durmientes (ya expuestas a un pretratamiento de eliminación de la dormición, son expuestas a condiciones ambientales desfavorables (alta temperatura, anoxia, exceso de agua, etc.), pueden activarse mecanismos fisiológicos de bloqueo de la germinación. El resultado son las llamadas “dormiciones inducidas o secundarias”, denominadas así para diferenciarlas de la “dormición primaria” (la que está presente en el momento de la diseminación) (Doria, 2010).

Las semillas sujetas a dormición secundaria prefieren con frecuencia ciclos de temperatura fuertemente variables para germinar, como sucede al final del invierno/inicio de la primavera (noches frías y días calurosos). En estos casos, las siembras tardías que encuentran el terreno demasiado “caliente” pueden provocar dormición secundaria y, por lo tanto, anular la germinación (Bacchetta *et al.*, 2008).

### **1.7. Sustratos utilizados en la germinación de las semillas.**

Según Agwah *et al.* (1994) existen dos métodos de evaluación de la germinación usando papel: a) Por encima del papel donde las semillas son puestas a germinar sobre uno o más capas de papel y b) entre papeles, donde las semillas son puestas a germinar entre dos capas de papel, las cuales son colocadas directamente en bandejas de germinación en cabinas o germinadores al ambiente donde el papel puede ser doblado o enrollado y colocado en posición horizontal o vertical. El primer método no es aplicable a las semillas de maíz, caraota y algodón; mientras que el segundo si se utiliza en estos tres cultivos junto con la prueba en arena (ISTA, 1985). El segundo método tiene el inconveniente de la dificultad en evaluar el vigor de las semillas caracterizado por la germinación a los 4 días, porque las radículas pueden llegar a romperse si las capas enrolladas de papel no son separadas cuidadosamente, por otra parte, las plántulas pueden ser disturbadas ocasionando un posible enmascaramiento de las características de las mismas al final de la evaluación (ocho días). La colocación de las semillas entre varias capas de papel sin

enrollar facilita la evaluación a los 4 días sin dañar las radículas y las plántulas porque las capas de papel son fácilmente removidas (ISTA, 2015).

Layne *et al.* (2007) utilizaron arena lavada de río no esterilizada, dejada secar al aire libre y cernida por medio de un tamiz de malla de 3 m para evaluar la germinación de los cultivares comerciales de maíz: Himeca 95 y Pioneer 3031, con un contenido de humedad promedio de 12%.

La adición de cantidades pequeñas de materia orgánica al suelo incrementa su capacidad para retener humedad debido a una correlación positiva entre el contenido de materia orgánica y el agua disponible (Hudson, 1994; Julca *et al.*, 2006).

Lines *et al.* (2015) estudiaron el efecto de tres sustratos (arena, suelo y vermiculita) sobre la germinación de semillas de *Calophyllum brasiliense* (L.) mostró que con el sustrato arena, logró el mayor porcentaje de germinación acumulada a través del período a partir de la emergencia de las plantas, hasta un máximo de 62,3% aproximadamente.

Kannark y Saiwa, (2000) indicaron que la arena fina y la cáscara quemada de arroz o sustratos conteniendo alguno de ellos parecieron ser el mejor sustrato de siembra para la germinación de semillas en *Amoora polystacya* (L.) con ninguna diferencia significativa en el porcentaje de germinación entre estos sustratos y el promedio del porcentaje de germinación de las semillas en la cáscara quemada de arroz fue el más alto (87%), en arena fue 84%, mientras, los porcentajes de germinación de las semillas en suelo fue el más bajo (31%).

Adicionalmente, Adeyemi e Ipinmoroti, (2006) evaluaron cinco sustratos de germinación (arena de río, suelo, aserrín, arena + aserrín (relación 1:1) y suelo + aserrín (relación 1:1) en la pregerminación de semillas de cinco clones de café robusta y encontraron que el porcentaje de emergencia en aserrín (63,2) fue significativamente más alto comparado con los otros sustratos con valores de 49,3; 46,1; 42,4 y 36,8% para arena, suelo + aserrín, arena + aserrín y suelo, respectivamente.

Por otra parte, Okeyo y Ouma, (2008) no encontraron diferencias significativas entre los sustratos arena y suelo para el porcentaje de germinación de semillas lavadas de lechosa (70,82 y 69,18%, respectivamente).

González *et al.* (2008) utilizaron como sustrato papel para realizar las pruebas de germinación a las semillas obtenidas en dos épocas, donde en la primera época de siembra bajo riego lograron mayores porcentajes de germinación que la producida en condiciones bajo temporal,

Celis *et al.* (2008) evaluaron una mezcla de tierra de monte y arena (2:1) como sustrato, para evaluar la variabilidad del vigor inicial con base en la morfología de la semilla y de las plántulas del germoplasma de frijol mejorado para las diferentes zonas productoras de México.

## **2. Materiales y métodos.**

### **2.1. Ubicación y localización del experimento.**

La investigación se desarrolló en el laboratorio Agropecuario III, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez” durante los meses de noviembre de 2015 a enero de 2016. Para ello se utilizaron muestras de semillas botánicas de frijol común, obtenidas de un productor asociado a la CCS “Mártires de Taguasco”. Este experimento está vinculado al Proyecto de “Producción Ecológica de granos, sector campesino de Sancti Spíritus”.

### **2.2. Características de los experimentos.**

Se realizaron cuatro experimentos con diferentes sustratos y tiempos de inmersión de las semillas de frijol común, en diseños experimentales completamente aleatorizados, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, se colocaron 25 semillas en cada placa petri de 8,5 cm de diámetros para un total de 100 semillas por tratamientos y las pruebas de germinación de las semillas se realizaron a temperatura ambiente y las mismas fueron sometidas a las condiciones e instrucciones establecidas en la norma cubana (NC: 618:2008).

#### **2.2.1. Tratamientos en sustrato de papel.**

##### **Experimento 1.**

- T<sub>1</sub> Control (semillas sin tiempo de inmersión).
- T<sub>2</sub> Inmersión de las semillas durante 30 minutos en agua destilada.
- T<sub>3</sub> Inmersión de las semillas durante 60 minutos en agua destilada.
- T<sub>4</sub> Inmersión de las semillas durante 120 minutos en agua destilada.
- T<sub>5</sub> Inmersión de las semillas durante 180 minutos en agua destilada.

#### **2.4.2. Tratamiento en sustrato de arena sílice.**

##### **Experimento 2.**

- T<sub>1</sub> Control (semillas sin tiempo de inmersión).
- T<sub>2</sub> Inmersión de las semillas durante 30 minutos en agua destilada.
- T<sub>3</sub> Inmersión de las semillas durante 60 minutos en agua destilada.
- T<sub>4</sub> Inmersión de las semillas durante 120 minutos en agua destilada.
- T<sub>5</sub> Inmersión de las semillas durante 180 minutos en agua destilada.

#### **2.4.3. Tratamiento en sustrato de arena río.**

##### **Experimento 3.**

- T<sub>1</sub> Control (semillas sin tiempo de inmersión).
- T<sub>2</sub> Inmersión de las semillas durante 30 minutos en agua destilada.
- T<sub>3</sub> Inmersión de las semillas durante 60 minutos en agua destilada.
- T<sub>4</sub> Inmersión de las semillas durante 120 minutos en agua destilada.
- T<sub>5</sub> Inmersión de las semillas durante 180 minutos en agua destilada.

#### **2.2.4. Tratamiento en sustrato de humus de lombriz.**

##### **Experimento 4.**

- T<sub>1</sub> Control (semillas sin tiempo de inmersión).
- T<sub>2</sub> Inmersión de las semillas durante 30 minutos en agua destilada.
- T<sub>3</sub> Inmersión de las semillas durante 60 minutos en agua destilada.
- T<sub>4</sub> Inmersión de las semillas durante 120 minutos en agua destilada.
- T<sub>5</sub> Inmersión de las semillas durante 180 minutos en agua destilada.

## **2.3. Materiales.**

2.3.1. Condiciones lumínicas y sustrato. Para llevar a cabo el ensayo se emplearon semillas con seis meses de almacenamiento en cuarto oscuro; a una temperatura ambiente promedio de  $\pm 27$  °C. Se utilizaron cuatro tipos de sustrato: papel de filtro, arena sílice, arena de río y humus de lombriz, donde los tres últimos fueron previamente esterilizados en autoclave a 1,36 atm de presión y a una temperatura de 240°C durante 30 minutos.

Los materiales utilizados como sustratos en la germinación de las semillas son: papel de filtro, arena, y tierra, (papel, arena sílice, arena de río y humus de lombriz). Las reglamentaciones para su preparación siguieron lo normado en la (NC 618: 2008) y se describen a continuación.

**2.3.1.** Germinación en sustratos de papel. Los sustratos se utilizan según lo establecido y de las formas siguientes:

TP (sobre papel) Top of paper. Las semillas se colocaron a germinar sobre la superficie de dos capas de papel de filtro para mantener la humedad.

**2.3.2.** Germinación en sustratos de arena. Se utilizaron arena sílice y arena de río como sustratos, donde la aplicación de los métodos prescritos fue de la forma siguiente:

Sobre arena. (TS Top of sand). Las semillas se presionaron contra la superficie de la arena. La arena se lavó y esterilizó, antes de su empleo como sustrato, para matar la totalidad de las bacterias, hongos, esporas, nematodos y semillas extrañas de otras especies de plantas.

**2.3.3.** Germinación en sustratos de tierra. Se utilizó humus de lombriz en el método TS se puede emplear tierra o un compuesto artificial en lugar de arena, pero en general, la tierra es de una difícil uniformidad siendo más fácil causar variaciones en los resultados. Este sustrato se empleará para comprobar evaluaciones de plántulas en casos de duda o para ensayos de muestras que producen plántulas que presenten síntomas fitotóxicos.

## **2.5. Determinación de las diferentes variables.**

### **2.5.1. Determinación de la masa seca y después de la inmersión de las semillas.**

Las muestras de semillas de frijol se pesaron antes de la inmersión y después se secaron al aire fresco y en papel de filtro durante 10 minutos, se utilizó una balanza analítica digital del tipo Sartorius BS 124 S con error de 0,1 g.

**2.5.2. Potencia germinativa (PG)** La PG se determinó a los siete días, contando el número de semillas germinadas durante ese intervalo de tiempo considerando el total de semillas germinadas (Engels y Visser, 2007).

$$P = \frac{N}{NT} \text{ Expresada en \%}$$

Dónde: N: número de semillas germinadas a los siete días

NT: número de semillas total de semillas.

### **2.5.3. Tiempo medio de germinación (MGT por sus siglas en inglés).**

El MGT se calcula determinando el número de semillas germinadas cada día, considerando el total de semillas germinadas (Tompsett y Pritchard, 1998):

$$MGT = \frac{\sum ni * di}{N} \text{ Expresada en \%}$$

Dónde:

ni: número de semillas germinadas en el día *d*

di: número de días desde el inicio del montaje de germinación

N: número total de semillas germinadas al final del ensayo.

### **2.5.4. Velocidad media de germinación (T50).**

El *T50* es el parámetro más utilizado para determinar la velocidad de germinación. Corresponde al tiempo necesario para obtener el 50% de la Potencia Germinativa del lote (Thanos y Doussi, 1995).

$$T50 = \frac{\left[\left(\frac{N}{2}\right) - N1\right] \cdot (T2 - T1)}{N2 - N1} + T1 \quad \text{Expresada en \%}$$

Dónde:

*N*: porcentaje final de semillas germinadas

*N1*: porcentaje de semillas germinadas por debajo de *N/2*

*N2*: porcentaje de semillas germinadas por encima de *N/2*

*T1*: número de días que corresponden a *N1*

*T2*: número de días que corresponden a *N2*

**2.5.5.** El coeficiente de uniformidad (*C<sub>u</sub>*) queda definido por la ecuación Durán y Pérez, (1984):

$$C_u = \frac{\sum N_i \cdot (\bar{D} - D_i)^2}{\sum N_i}$$

Donde:

*N<sub>i</sub>*= Número de semillas germinadas el día *D<sub>i</sub>*.

*D<sub>i</sub>*= Número de días transcurridos desde la siembra.

*D*= Número de días después de la siembra elegido para calcular la uniformidad de germinación.

### **2.5.6. Vigor de germinación (VG)**

El VG relaciona los parámetros Valor pico (VP) y Germinación media diaria (GMD) mediante la expresión siguiente (Bacchetta *et al.*, 2008).

VG = VP\*GMD (Expresado en días).

Se define el VP como el porcentaje de germinación en un punto T respecto al número de días necesarios para alcanzar este punto, así pues, la expresión matemática para su cálculo es la siguiente:

$$VP = \frac{PGT}{T} \text{ Expresado en días}^{-1}$$

Dónde:

PGT: porcentaje de germinación a los T días

T: día con mayor número de semillas germinadas

Para el cálculo de GMD se emplea la expresión:

$$GMD = \frac{PGT}{TE} \text{ Expresado en días}^{-1}$$

Dónde:

PGF: % de germinación al finalizar el ensayo.

TE: Tiempo de duración del ensayo.

**2.5.7. Determinación de la longitud y la masa del hipocótilo.** (Parte del tallo de la plántula situada entre los cotiledones y la raíz primaria).

A los siete días después de germinadas las plantas se observaron 10 plantas al azar por tratamientos, para determinar la longitud se utilizó una regla graduada y la masa se determinó cuando se separaron los cotiledones y la raíz primaria, en una balanza analítica digital del tipo Sartorius BS 124 S con error de 0,1 g.

## **2.6. Procesamiento estadístico.**

Se realizó para los datos obtenidos y los datos expresados en porcentaje se transformaron por el arcoseno  $\sqrt{X/100}$ . Se aplicó la prueba de normalidad de las variables, se realizó un análisis de varianza simple, la prueba de homogeneidad de varianza y las medias se compararon por prueba de rangos múltiples de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Los resultados se procesaron en el paquete estadístico SPSS 18.0 versión en español para Windows.

### **3. Resultados y discusión.**

Se detectaron diferencias significativas en el análisis de varianza para todas las variables evaluadas en el experimento.

#### **3.1. Comportamiento de la masa de las semillas.**

Al analizar la tabla 3.1, se observa el comportamiento de la masa promedio inicial y final de los tratamientos, se observa que en el masa seca inicial no hubo diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, porque hubo en equilibrio de las muestras, para minimizar algunos errores posibles en el inicio del experimento.

En la misma tabla se observa que existieron diferencias significativas entre los tratamientos para la masa final de las semillas después del tiempo de inmersión de estas, los mayores valores promedios correspondieron a los tiempos de inmersión de 120 y 60 minutos sin diferencias entre estos, pero superiores a los tiempos de inmersión de 30 y 180 minutos.

Resultados análogos fueron reportados por Ogutande y Adebawo, (1989) quienes encontraron que la absorción de agua en el cultivar TZPB (semilla blanca) de frijol ocurrió dentro de las primeras 24 horas.

Los resultados obtenidos coinciden por lo planteado por Soltani *et al.* (2002) quienes documentaron que las semillas entre más largas y masa presentan germinan más rápido e incrementan los porcentajes de germinación.

Esto coincide con lo planteado por Sosa *et al.* (2005) quienes encontraron que las semillas con alto contenido de proteína necesitan un contenido de humedad mayor que semillas con niveles bajos de proteína.

Los resultados obtenidos corroboran lo obtenido por Sousa *et al.* (2006) quienes indicaron que, durante la imbibición, el movimiento de agua dentro de la semilla se debe a la acción de difusión y capilaridad, con el movimiento del agua de una región con un potencial hídrico mayor a una de un potencial hídrico menor, incrementando la masa de las semillas.

Similarmente, Mei y Song, (2008) estudiaron los eventos iniciales tanto morfológicos como fisiológicos que ocurren durante la imbibición y germinación de semillas de maíz e

indicaron que la absorción de agua de las semillas exhibió una masa mayor a las que no fueron colocadas en estas condiciones.

Tabla 3.1. Comportamiento de la masa de las muestras de semillas antes y después de los tiempos de inmersión evaluados.

<b>Tratamientos</b>	<b>Masa inicial (g)</b>	<b>Masa final (g)</b>
Control	29,00a	29,00c
30 min	29,55a	47,75b
60 min	30,00a	51,62a
120 min	29,73a	51,92a
180 min	29,14a	48,90b
CV (%)	2,2	1,9
Ex	0,016	0,005

### **3.2. Comportamiento del porcentaje acumulado y la potencia germinativa.**

En la tabla 3.2 se observa el comportamiento de los tratamientos en el porcentaje acumulado de germinación diario de las semillas de frijol en sustrato de papel, la misma muestra que existieron diferencias estadísticas entre las variantes evaluadas, donde todos los tratamientos obtuvieron la germinación de las semillas concentradas en los días dos, tres y cuatro después de la siembra y en el control las semillas germinaron hasta el día siete después de la siembra de estas.

Por su parte Gentry *et al.* (2010) obtuvieron resultados, el tratamiento 250 mg/l presentó un 87,0% de germinación con 1,7 plantas/germinadas/día en un periodo de 25,5 días; superior a los valores presentados por los demás tratamientos. Se observó que el tiempo de remojo influye menos que la aplicación de ácido giberélico.

Tabla 3.2. Comportamiento de la germinación acumulada diaria de las semillas de frijol en sustrato de papel.

Experimentos Tratamientos	Días	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
		Porcentaje de semillas germinadas (%)						
1 (papel)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	2	0,00	26,00	30,00	30,00	24,00		
	3	13,00	38,00	39,00	38,00	38,00	2,31	0,01
	4	15,00	26,00	27,00	28,00	30,00		
	5	38,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	6	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	7	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00		

En la tabla 3.3 se observa el comportamiento de los tratamientos en el porcentaje acumulado de germinación diario de las semillas de frijol en sustrato de papel, la misma muestra que existieron diferencias estadísticas entre las variantes evaluadas, donde todos los tratamientos obtuvieron la germinación de las semillas concentradas en los días dos, tres y cuatro después de la siembra y en el control las semillas germinaron hasta el día siete después de la siembra de estas.

Esto coincide con lo obtenido por Lines *et al.* (2015) quienes estudiaron el efecto de tres sustratos (arena, suelo y vermiculita) sobre la germinación de semillas de *Calophyllum brasiliense* (L.), donde demostraron que, con el sustrato de arena, se logró el mayor porcentaje de germinación acumulada a través del período a partir de la emergencia de las plantas, hasta un máximo de 62,3% aproximadamente.

Tabla 3.3. Comportamiento de la germinación acumulada diaria de las semillas de frijol en sustrato de arena sílice.

Experimentos Tratamientos	Días	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
		Porcentaje de semillas germinadas (%)						
1 (arena sílice)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	2	0,00	25,00	34,00	28,00	27,00		
		c	0,52b	0,62a	0,56b	0,55b	2,22	0,02
	3	17,00	37,00	35,00	40,00	37,00		
		0,42b	0,65a	0,63a	0,68a	0,65a	3,14	0,04
	4	19,00	30,00	25,00	26,00	27,00		
		0,43b	0,66a	0,63a	0,68a	0,65a	2,54	0,06
	5	24,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,51a						
	6	22,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,49a						
	7	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,25a							

En la tabla 3.4 se observa el comportamiento de los tratamientos en el porcentaje acumulado de germinación diario de las semillas de frijol en sustrato de arena sílice, la misma muestra que existieron diferencias estadísticas entre las variantes evaluadas, donde todos los tratamientos obtuvieron la germinación de las semillas concentradas en los días dos, tres y cuatro después de la siembra y en el control las semillas germinaron hasta el día siete.

Estos resultados coinciden con lo obtenido por Okeyo y Ouma, (2008) quienes no encontraron diferencias significativas entre los sustratos arena y suelo para el porcentaje de germinación acumulado de semillas lavadas de lechosa (*Carica papaya* L.).

Estos resultados corroboran lo obtenido por Méndez *et al.* (2009) quienes estudiaron el efecto de diferentes combinaciones de sustratos (arena, suelo y/o bagazo de caña de azúcar) sobre la germinación de semillas y altura de plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y obtuvieron que el sustrato de arena mostró los mayores valores de porcentaje

germinación y crecimiento inicial de las plantas con respecto a los demás sustratos evaluados.

Tabla 3.4. Comportamiento de la germinación acumulada diaria de las semillas de frijol en sustrato de arena de río.

Experimentos Tratamientos	Días	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
		Porcentaje de semillas germinadas (%)						
1 (arena de río)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	2	0,00	27,00	30,00	29,00	28,00		
		b	0,55a	0,58a	0,57a	0,56a	4,55	0,07
	3	14,00	34,00	36,00	38,00	40,00		
		0,38b	0,62a	0,64a	0,66a	0,66a	3,55	0,08
	4	16,00	29,00	28,00	27,00	22,00		
		0,39b	0,62a	0,64a	0,66a	0,68a	4,22	0,09
	5	36,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,64a						
	6	15,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,40a						
	7	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,27a							

En la tabla 3.5 se observa el comportamiento de los tratamientos en el porcentaje acumulado de germinación diario de las semillas de frijol en sustrato de arena de río, la misma muestra que existieron diferencias estadísticas entre las variantes evaluadas, donde todos los tratamientos obtuvieron la germinación de las semillas concentradas en los días dos, tres y cuatro después de la siembra y en el control las semillas germinaron hasta el día siete después de la siembra de estas.

Estos resultados coinciden por lo obtenido por Méndez *et al.* (2009) donde a los 47 días después de la siembra, en el sustrato arena se observó los mayores porcentajes acumulados de germinación con respecto a los sustratos arena + suelo y suelo respectivamente.

Tabla 3.5. Comportamiento de la germinación acumulada diaria de las semillas de frijol en sustrato de humus de lombriz.

Experimentos Tratamientos	Días	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
		Porcentaje de semillas germinadas (%)						
1 (humus de lombriz)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	2	0,00	29,00	28,00	24,00	29,00		
		b	0,57a	0,56a	0,51a	0,57a	5,25	0,09
	3	27,00	35,00	39,00	41,00	38,00		
		0,55b	0,63a	0,67a	0,69a	0,66a	4,37	0,07
	4	16,00	28,00	28,00	30,00	24,00		
		0,41b	0,56b	0,56b	0,58b	0,51b	6,55	0,10
	5	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,38a						
	6	19,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,45a						
	7	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,34a							

En la tabla 3.6 se muestra el porcentaje de semillas de frijol germinadas en los sustratos evaluados a diferentes tiempos de inmersión de la semillas, se observa que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, los mayores porcentajes de semillas germinadas en el sustrato de papel, ocurrieron cuando las semillas fueron sumergidas durante 60 y 120 minutos sin diferencias entre estos tiempos de inmersión, los cuales superaron a los tiempos de 30 y 180 minutos y al control, también los tratamientos de 30 y 180 minutos alcanzaron buenos resultados con porcentajes de semillas germinadas superiores al 90 % y superaron al control.

El porcentaje de semillas germinadas de frijol común variedad Bat 304, en sustrato de arena sílice (tabla 3.6) se observa los resultados alcanzados en los porcentajes de germinación por los diferentes tratamientos, donde existió diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, los valores más elevados de semillas germinadas los alcanzaron cuando estas se sumergieron durante 60 y 120 minutos sin diferencias entre estos, pero superaron los tiempos de 30 y 180 min y al control.

Por otra parte, los resultados alcanzados en los sustratos de arena de río y humus de lombriz los mejores tiempos de inmersión fueron los de 60 y 120 min con diferencias significativas con respecto a los demás tiempos de inmersión y al control.

Resultados similares obtuvieron Laynez y Méndez, (2006) al incrementar la germinación de semillas de ajonjolí con respecto al testigo.

Los resultados obtenidos corroboran lo expresado por Easton y Kleindorfer, (2008) obtuvieron que los rangos de germinación fueron más altos en las semillas de especies más grandes que en las más pequeñas. Las especies de semillas pequeñas no tuvieron baja germinación en el experimento.

Los resultados obtenidos por Torres *et al.* (2008) para porcentajes de germinación en muestras de semillas de arroz las diferencias se alcanzaron a las 86 h porcentajes de germinación superiores al control entre 6 y 11%.

Resultados similares los obtuvieron Islam *et al.*, (2012) en los porcentajes de germinación en arroz (96,84%) al comparar diferentes tratamientos como bioestimulantes de la germinación y un control con agua destilada.

Tabla 3.6. Comportamiento de la potencia germinativa de las semillas de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

<b>Experimentos</b> <b>Tratamientos</b>	<b>Control</b>	<b>30 min</b>	<b>60 min</b>	<b>120 min</b>	<b>180 min</b>	<b>CV (%)</b>	<b>Ex</b>
	<b>Porcentaje de semillas germinadas (%)</b>						
1 (papel)	88,33	90,33	95,67	95,33	91,67		
	0,930c	0,951b	0,978a	0,976a	0,957b	1,2	0,004
2 (arena sílice)	88,33	91,67	94,67	94,67	90,67		
	0,934c	0,957b	0,973a	0,973a	0,952b	2,8	0,066
3 (arena río)	88,33	92,33	95,33	94,33	90,33		
	0,939c	0,961b	0,976a	0,971a	0,950b	1,5	0,046
4 (humus de lombriz)	87,33	91,33	94,67	95,33	90,67		
	0,935c	0,957b	0,973a	0,976a	0,952b	1,6	0,005

Al analizar la tabla 3.7 se observa el efecto de los tratamientos en el coeficiente de uniformidad de germinación de las semillas de un lote de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión utilizados, donde hubo diferencias significativas entre los tratamientos, cuando se utilizó papel de filtro como sustrato el mayor coeficiente de uniformidad de germinación los logró cuando las semillas estuvieron en inmersión durante 180 min resultados superiores a los demás tiempos de inmersión de las semillas y al control sin inmersión.

En la misma tabla se observa los resultados logrados por los tratamientos en el coeficiente de uniformidad de germinación de las semillas cuando se utilizó como sustrato arena sílice también existieron diferencias significativas entre los tratamientos y los mayores valores promedios los alcanzó el tiempo de inmersión de las semillas durante 30 min con respecto a los demás tiempos y al control.

Para los sustratos de arena río y humus de lombriz (tabla 3.7) los mayores valores promedios de coeficiente de uniformidad de germinación los alcanzaron los tiempos de inmersión de 30, 60 y 120 min sin diferencias significativas entre ellos, pero si difieren de los resultados logrados por el tiempo de 180 min y al control.

Resultados similares los obtuvo **Guilles** (2007) al aplicar el tratamiento con GA<sub>3</sub> donde encontró los coeficientes de uniformidad más elevado a las concentraciones situadas entre 10 y 50 mg L<sup>-1</sup>.

Estos resultados coinciden con lo planteado por Sobrevilla *et al.* (2013) quienes determinaron que el Coeficiente de Uniformidad de la Germinación es la uniformidad expresada como la varianza de los tiempos individuales de las semillas, respecto al promedio del tiempo de la muestra evaluada. A la par que asumieron que el tiempo para completar la germinación se comporta como una distribución normal; y mientras mayor resulte ser dicho valor, mayor será la uniformidad.

Tabla 3.7. Comportamiento del coeficiente de uniformidad en la germinación de las semillas de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

Experimentos Tratamientos	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
	Coeficiente de uniformidad.						
1 (papel)	45,0c	78,0b	81,0b	84,0b	90,0a	4,3	0,01
2 (arena sílice)	57,0c	90,0a	75,0b	78,0b	81,0b	5,4	0,03
3 (arena río)	48,0c	87,0a	84,0a	81,0a	66,0b	3,2	0,01
4 (humus de lombriz)	48,0c	84,0a	84,0a	90,0a	72,0b	5,8	0,03

En la tabla 3.8 se observa el comportamiento mostrado por los tratamientos en el tiempo medio de germinación, se muestra que existieron diferencias significativas entre las variantes evaluadas en los diferentes experimentos, los mayores valores medios más elevados de tiempo medio germinación correspondieron al control en todos los sustratos con valores que superan los 4 días de germinación, para el primer sustrato todos los tiempos de inmersión lograron medias inferiores que el control donde el control las plantas germinaron casi dos días después como promedio.

En la misma tabla se observa que cuando se utilizó la arena sílice como sustrato existió diferencias estadísticas significativas y todos los tiempos de inmersión de las semillas empleados germinaron como promedio más rápido con una diferencia a casi dos días más rápido que el control que alcanzó una media superior a los cuatro días.

Estos resultados corroboran lo planteado por Murcia *et al.* (2006) quienes obtuvieron que la velocidad de germinación evaluada como tiempo medio de germinación, no tiene vinculación con la composición acídica de las semillas de girasol, ni a temperatura óptima ni a baja temperatura.

Los resultados obtenidos coinciden por Khamassi *et al.* (2013) obtuvieron que el tiempo medio de germinación estimado en semillas de arroz fue tres días a la temperatura 20 °C.

Tabla 3.8. Comportamiento del tiempo medio de germinación de las semillas de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

Experimentos Tratamientos	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
	T50 (días)						
1 (papel)	4,36a	2,70b	2,86b	2,86b	2,82b	3,3	0,058
2 (arena sílice)	4,21a	2,81b	2,73b	2,80b	2,73b	2,4	0,006
3 (arena río)	4,25a	2,72b	2,80b	2,80b	2,64b	3,6	0,044
4 (humus de lombriz)	4,06a	2,75b	2,85b	2,91b	2,78b	2,5	0,065

En la tabla anterior se observa que en el experimento 3 donde se utilizó la arena de río como sustrato existió diferencias significativas entre los tratamientos donde todos los tiempos de inmersión lograron medias inferiores al control con tiempos medios de germinación de dos días y siete horas y el control con más de cuatro días como promedio.

En la tabla anterior (3.8) se representan los valores medios obtenidos de tiempo medio de germinación en días de los tratamientos en sustrato de humus de lombriz donde todos los tiempos de inmersión germinaron un día antes que el control.

Resultados similares fueron expresados por Moradi *et al.* (2008) quienes obtuvieron que las germinaciones más rápidas en semillas de maíz cuando los indicadores T50 y MGT fueron más bajos.

Por su parte Gairola *et al.* (2011) lograron que la mayor velocidad de germinación la alcanzaron a una temperatura de 35 °C y la menor velocidad a 22 °C.

Los resultados de germinación y velocidad de germinación (T50) resultaron coincidentes con lo expuesto por Contreras *et al.* (2012) que, para especies evaluadas, donde una baja germinación está asociada con una rápida y media velocidad de germinación y la alta germinación tiende a estar asociada con una velocidad media y lenta, que en la presente investigación no sucedió.

En la tabla 3.9 se observa el comportamiento de los tratamientos en el vigor germinativo de las semillas en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión, se muestra que existieron diferencias significativas entre las variantes evaluadas, para el caso donde se utilizó sustrato de papel los mayores valores promedios los alcanzaron los tratamientos a 60, 120 y 180 min con valores superiores al tiempo de 30 min y el control.

En la misma tabla se observa que para los sustratos de arena sílice y arena de río también existieron diferencias significativas entre los tratamientos donde los mayores promedios de vigor germinativo los alcanzaron los tratamientos de 60 y 120 min con resultados superiores a los tiempos de 30 y 180 min y el control sin inmersión.

Los resultados más variables se encontraron cuando se utilizó humus de lombriz como sustrato (tabla 3.9) con diferencias significativas entre los tratamientos y los valores medios más altos de vigor germinativo fueron alcanzados cuando las semillas estuvieron en inmersión durante 120 minutos donde superó a todos los tratamientos y el control sin inmersión.

Gómez (2004) obtuvo la mayor potencia germinativa y vigor se obtuvo con semillas que permanecieron durante tres meses almacenadas, en cuarto oscuro, a temperaturas entre 12 y 18°C, los más altos porcentajes de germinación y el mayor vigor, así como las plántulas más grandes y bien formadas, cuando se utilizó tierra como sustrato y se dejaron los germinadores a plena exposición.

Resultados similares obtuvo Rosa, (2015) quien obtuvo los valores medios más alto de vigor germinativo en semillas de frijol cuando utilizó 180 minutos de inmersión de las semillas en el biofertilizante de microorganismos nativos multipropósitos.

Tabla 3.9. Comportamiento del vigor germinativo de las semillas de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

Experimentos Tratamientos	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
	Vigor germinativo						
1 (papel)	88,97c	205,71b	<u>226,29a</u>	<u>226,29a</u>	<u>223,43a</u>	6,5	0,07
2 (arena sílice)	113,14c	201,14b	<u>220,43a</u>	<u>221,57a</u>	208,00b	7,3	0,12
3 (arena río)	94,29c	202,50b	<u>214,86a</u>	<u>218,21a</u>	199,29b	4,5	0,03
4 (humus de lombriz)	133,61d	207,00c	227,32b	<u>240,89a</u>	201,50c	5,0	0,06

### 3.3. Comportamiento de la masa y longitud del hipocótilo.

Al analizar la tabla 3.10, se observa la masa promedio del hipocótilo después de germinadas las semillas en los diferentes sustratos utilizados en los experimentos, se observan que existieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, cuando se utilizaron los sustratos de papel, arena de río y humus de lombriz los mayores valores de la masa promedio, los alcanzó el tratamiento a 180 minutos de inmersión en agua, con valores superiores a los demás tratamientos y el control y cuando se utilizó arena sílice como sustrato el tiempo de inmersión de las semillas en agua durante 60 min logró los mayores valores promedios de la masa comparados con los demás tratamientos y el control.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Domínguez, (2014) quién analizó la cinética del desarrollo del hipocótilo, apreció que todas las plántulas presentaron hipocótilo a partir del cuarto día, obteniendo diferencias entre la masa de los mismos.

Tabla 3.10. Comportamiento de la masa promedio del hipocótilo de los tratamientos en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

Experimentos Tratamientos	Control	30 min	60 min	120 min	180 min	CV (%)	Ex
	Masa promedio del hipocótilo (g)						
1 (papel)	0,038c	0,044bc	0,042bc	0,050b	0,070a	2,3	0,003
2 (arena sílice)	0,066b	0,051c	0,073a	0,058c	0,065b	4,4	0,047
3 (arena río)	0,07d	0,32c	0,30c	0,51b	0,66a	4,9	0,032
4 (humus de lombriz)	0,04d	0,18c	0,30b	0,26b	0,51a	3,6	0,022

La tabla 3.11, muestra la longitud promedio del hipocótilo después de germinadas las semillas de frijol en los diferentes sustratos, se observa que existió diferencias significativas entre los tratamientos en los medios utilizados. El valor promedio más elevado lo alcanzaron las semillas sumergidas durante 180 minutos con promedios superiores a los demás tratamientos y al control cuando se utilizó papel, en arena sílice los mayores valores promedios de longitud los alcanzó el tratamiento a 60 min, resultados superiores a los demás tiempos utilizados y el control, y en los medios de arena de río y humus de lombriz los mayores resultados medios los alcanzaron los tiempos de 60, 120 y 180 minutos sin diferencias estadísticas entre estos y superaron al tiempo de 30 min y al control.

Resultados similares fueron logrados por Ontiveros *et al.* (2005), en plántulas de soya (*Glycine max* [L.] Merr.), reportaron que, a bajos potenciales de agua, el crecimiento de la raíz se afectó ligeramente en contraste con el del hipocótilo, lo que puede dependió de la variedad.

Los resultados obtenidos corroboran lo planteado por Celis *et al.* (2010) quienes consiguieron que la longitud del hipocótilo confirma la importancia de este en el proceso de emergencia de las plántulas y su variabilidad en el germoplasma evaluado.

Tabla 3.11. Comportamiento de la longitud promedio de las semillas de frijol común en los diferentes sustratos y tiempos de inmersión evaluados.

<b>Experimentos</b> <b>Tratamientos</b>	<b>Control</b>	<b>30 min</b>	<b>60 min</b>	<b>120 min</b>	<b>180 min</b>	<b>CV (%)</b>	<b>Ex</b>
	<b>Longitud promedio del hipocótilo (g)</b>						
1 (papel)	0,7c	0,8c	1,40b	1,44b	1,62a	4,83	0,057
2 (arena sílice)	0,6c	1,7b	2,2b	1,8b	1,9b	3,27	0,087
3 (arena río)	2,16c	9,19b	12,3a	12,9a	12,8a	4,10	0,076
4 (humus de lombriz)	1,2c	5,6b	7,6a	7,4a	7,7a	3,63	0,072

#### **4. Conclusiones.**

- ✓ La utilización de diferentes sustratos y tiempos inmersión de las semillas de un lote de frijol común tuvieron un efecto positivo en el máximo potencial de germinación y los mejores tiempos de inmersión fueron 60, 120 y 180 minutos cuando se utilizaron los sustratos de arena de río y humus de lombriz porque lograron valores de potencia germinativa superiores a 94%, altos coeficientes de uniformidad de germinación y las mayores masas y longitud promedio del hipocótilo.

## **5. Recomendaciones.**

Utilizar los sustratos de arena de río y humus de lombriz en las pruebas de germinación de las semillas y el crecimiento inicial de las plantas de frijol.

Continuar con la evaluación de otras especies de semillas en las pruebas de germinación y el crecimiento inicial de las plantas utilizando estos sustratos.

## 6. Bibliografía.

- Adeyemi, E., and Ipinmoroti, R. (2006). Evaluation of different germination media on pregermination performance of selected clones of robusta coffee (*Coffea canephora*) in Nigeria. Proceedings of the 21<sup>st</sup>. International Scientific Colloquium on Coffee, Montpellier. Association Scientifique Internationale du Café (ASIC).
- Aguilar, G., Peña, C., García, J., Ramírez, P., Benedicto, G., y Molina, J. (2012). Rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en relación con la concentración de vermicompost y déficit de humedad en el sustrato. *Agrociencia* 46: 37-50.
- Agwah, E., Shehata, S., and El-Sayed, S. (1994). Effect of some growth regulators on seed production of onion (*Allium cepa* L.). In: Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo., 45: 2, 469-482p.
- Allendorf, F., Gordon, W.; y Sally, N. (2013). Conservation and the genetics of populations. Wiley-Blackwell, Chichester, UK, p. 587.
- Alzugaray, C.; Carnevale, N.; Salinas, A., y Pioli, R. (2007). Factores bióticos y abióticos que afectan la calidad de las semillas de *Schinopsis balansae* Engl. y *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltdl. *Rev. Iberoam. Micol*, 24:142-147.
- Bacchetta, G., Fenu, G., Mattana, E., Sánchez, A., Jiménez Alfaro, B., Piotto, B., & Virevaire, M. (2008). Conservación ex situ de plantas silvestres.
- Baskin, C. y Baskin, J. (2001). Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego: Academic Press, 666 p.
- Berjak, Patricia and Pammenter, N. (2004). Recalcitrant seeds. Handbook of seed physiology. Food Products Press, New York. pp. 305-345.
- Berjak, Patricia; Bartels, P.; Benson, Erica; Harding, K.; Mycock, D.; Pammenter, N., y Wesley, J. (2011). Cryoconservation of South African plant genetic diversity. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 47:65–81.

- Bewley, J. D. and Black, M. 1983. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Volume 1: Development, germination, and growth". Second edition. Berlin, Germany. Springer-Verlag. 306 p.
- Celis, R., Peña C., Luna, M., y Aguirre, J. (2010). Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2010, 27: 61-87.
- Celis, Raquel, Peña, Cecilia, Luna, M., Aguirre, J., Carballo., A., y Trejo, C. (2008). Variabilidad morfológica seminal y del vigor inicial de germoplasma mejorado de frijol. *Agronomía Mesoamericana* 19(2): 179-193. ISSN: 1021-7444.
- Chong, C. y Bible, B. B. y Hak-Yoon Ju. (2002). Germination and emergence. [En línea] En: M. Pessaraki (Ed.). Handbook of plant and crop physiology. 2a. ed. [online] New York: Marcel Dekker Inc, p. 85-146. ISBN: 0-8247-0546-7. [Consultado 20/11/2008]. Disponible en: <<http://www.google.com/books>>.
- Contreras, Mariana; Pando, Marisela; Jurado, E; Estrada, E; Flores, J. (2012). Evaluación de la germinación de semillas de especies nativas de los pastizales del altiplano del norte de México. Seminarios de Posgrado. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. Pag 101-110.
- Copete, E.; Herranz, J.; Ferrandis, P.; Baskin, C., and Baskin, J. (2011). Physiology, morphology and phenology of seed dormancy break and germination in the endemic Iberian species *Narcissus hispanicus* (*Amaryllidaceae*). Ann Bot. 107(6): 1003-1016,
- Dodds, J. H. (1991). In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources. Chapman & Hall, London, 240 pp.
- Domínguez, Amalia, Pérez, Y., Sosa, Maryla, Sosa, Daynet, Rea, R. (2014). Efecto del estrés hídrico sobre la germinación de genotipos de frijol común en condiciones experimentales de sequía. Revista Avanzada Científica: 17 (1). p 1-15.
- Doria, Jessica. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1): 74-85.

- Easton, L., Kleindorfer, S. (2008). Interaction effects of seed mass and temperature on germination in Australian species of Frankenia(Frankeniaceae). *Folia Geobot.* 43: 383-396.
- Eira, M.; A.; Da Silva, E.; de Castro, R.; Dussert, S.; Walters, Christina; Bewley J., and Hilhorst, H. (2008). Coffee seed physiology. *Braz. J. Plant Physiology.* 18(1): 149-163.
- Engelmann F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant Biodiversity. In *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 47:5–16.
- Engelmann, F. (2009). Use of Biotechnologies for Conserving Plant Biodiversity. *Acta Horticulturae*, 812: 63-82.
- Engels, J., and Visser, L. (2007). Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma Manuales de Biodiversity para Bancos de Germoplasma No. 6 (No. 6). Biodiversity International.
- FAO. (2009). Conferencia del Director General de la FAO, 19 de junio 2009. Roma. (Consultado: 20 de febrero de 2016). Disponible en: <http://www.fao.org/fileadmin/>.
- Farooq, M., Basra, S., Wahid, A., Cheema, Z., Cheema, M. & Khaliq, A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.) *J. Agron. Crop. Sci.* 194: 325–333.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, M. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29: 185–212.
- Finch, W. E. y Leubner, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171: 501–523.
- Foley, M. (2001). Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science*, 49:305–317.
- Gairola K.C, Nautiyal A.R, and Dwivedi, A. K. (2011). Effect of Temperatures and Germination Media on Seed Germination of *Jatropha Curcas* Linn. *Advances in Bioresearch.* (2) 2, pp 66 – 71. ISSN 0976-4585.

- Gentry, J; Saldívar, P; Laguna, A., Gutiérrez, F, Domínguez Maribel. (2010). Ácido giberélico en la germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.). *Agronomía Mesoamericana* 21(2):327-331. ISSN: 1021-7444.
- Gepts, P. (2006). Plant Genetic Resources Conservation and Utilization: The Accomplishments and Future of a Societal Insurance Policy. *Crop Sci*, 46: 2278–2292.
- Gholami, M., Rahemi, M. & Kholdebarin, B. (2010). Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. *Australian Journal. Basic*. 4:785-791.
- Gómez, Martha Ligia. (2004). Estimación de la capacidad germinativa y el vigor de las semillas de diomate (*Astronium graveolens* Jacq.) sometidas a diferentes tratamientos y condiciones de almacenamiento. (buscar revista de publicación o página web).
- González, Gabriela., Mendoza, F., Covarrubias, J., y Acosta, J. (2008). Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del bajío. *Agricultura Técnica en México*. 34(4): p. 421-430.
- Hamayun, M., Afzal Khan, S., Khan Shinwari, Z., Latif Khan, A., Ahmad, N. & InJung, L. (2010). Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physiohormonal attributes of soybean. *Pakistan Journal Botanic*.42:977-986.
- Hartman, H. y D. Kester. (1980). Propagación de plantas. Principios y práctica. Compañía editorial Continental, México. 760 p.
- Hidalgo, R. (2003). Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. Instituto Nacional de Recursos Filogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia, Boletín técnico No.8, p. 2-26.
- Hudson, B.D. (1994). Soil organic matter and available water capacity. *J. Soil Water Conservation*. 49:189-194.
- Hunter, D. (2011). Adaptación al cambio global. En: Parientes silvestres de los cultivos: manual para la conservación in situ. *Bioversity International*, Roma, Italia. 381-402.

- Islam, R; Mukherjee A; and Hossin M. (2012). Effect of osmopriming on rice seed germination and seedling growth. *J. Bangladesh Agril. Univ.* 10(1): 15–20.
- ISTA. (2015). International Rule for Seed Testing. *Seed Science and Technology; International Rules for Seed Testing.* 6 (10). 10 p.
- ISTA. 2005. International Rules for Seed Testing. Edición 2005. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Suiza. Sitio de la ISTA: <http://www.seedtest.org>.
- ISTA. (1985). International Seed Testing Association. *Seed Science and Technology; International Rules for Seed Testing.* Rules 1985. Volume 13 Number 2. 520 p.
- Julca, A., Meneses, L., Blas, R., y Bello, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *Idesia.* 24 (1): 49 61.
- Kannark, P. and Saiwa, S. (2000). Effects of sowing and seed covering media on the germination of *Amoora polystachya* seeds. Royal Forest Department, Thailand. [citado 10 de febrero de 2016]. Disponible de *Forest Research Office*: [http://www.forest.go.th/Research/English/abstracts\\_silvic/tasua.htm](http://www.forest.go.th/Research/English/abstracts_silvic/tasua.htm).
- Khamassi, K, Harbaoui, K, Teixeira, J and Jeddi, F. (2013). Optimal Germination Temperature Assessed by Indices and Models in Field Bean (*Vicia faba* L. var. minor). *Agriculturae Conspectus Scientificus.* (78) 2. p 131-136).
- Khoury, C.; Laliberte, B., and Guarino, L. (2010). Trends in ex situ conservation of plant genetic resources: a review of global crop and regional conservation strategies. *Genetic Resources Crops Evolution*, 57:625–639.
- Koornneef, M.; Bentsink, L. y Hilhorst, H. (2002). Seed dormancy and germination. *Current Opinion. Plant Biol.*, Vol. 5, p. 33-36.
- Koornneef, M.; Bentsink, L.; and Hilhorst H. (2002). Seed dormancy and germination. *Current pinion. Plant Biologic*, 5:33-36.
- Lagiere, R. 1969. El algodón. Colección Agricultura Tropical. Traducido por Vicente Ripoll. Editorial Blume. Barcelona, España. 292 p.

- Layne, J., Méndez, J., y Mayz, J. (2007). Crecimiento de plántulas a partir de tres tamaños de semilla de dos cultivares de maíz (*Zea mays* L.), sembrados en arena y regados con tres soluciones osmóticas de sacarosa. *IDESIA* (Chile) 25 (1), enero abril, 21-35.
- Leubner-Metzger G. (2003). "The Biology of Seeds: Recent Research Advances". Chapter 12, CABI Publishing, Wallingford, UK, New York, USA, pp. 101-112.
- Lines, Kathya; Herrera, J., y Vásquez, W. (2015). Estudio de la germinación y la conservación de semillas de cedro maría (*Calophyllum brasiliense* L.). *Tecnología en Marcha*. Vol. 19-1. p. 33-49.
- Lobo, M., y Medina, Clara. (2009). Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 10(1), 33-42.
- Maarouf, H., and Bailly, C. (2006). Oxidative signaling in seed germination and dormancy. *Plant Signaling & Behavior*, 3:175–182.
- Maxted, N.; Ford, B., y Hawkes, J. (1997). Complementary Conservation Strategies. *Plant Genetic Conservation. The in Situ Approach*. ed. Chapman & Hall, London, pp. 15-39.
- Méndez, J.R., Moreno, M., y Moya, J. (2009). Efecto de diferentes combinaciones de sustratos (arena, suelo y/o bagazo de caña de azúcar) sobre la germinación de semillas y altura de plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) *UDO Agrícola*, 9 (1): 121-125.
- Montes, V. (1990). Causas bioquímicas del bajo poder germinativo de semillas. pp. 109-110. En: Trivino Díaz, T. y L.F. Jara (comps.). *Memorias del seminario taller sobre investigaciones en semillas forestales tropicales*, Bogotá, octubre 26-28 de 1988. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal (Conif), Serie Documentación, Bogotá.
- Moradi, P, Sharif, F and Janmohammadi, M. (2008). Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.) *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. VOL. 3, NO. 3, p. 22-25. ISSN 1990-6145.

- Murcia, Mónica, Del Longo, Olga, Argüello, J., Pérez, María, Peretti, Anna. (2006). Evaluación del crecimiento de plántulas de cultivares de girasol con diferentes proporciones de ácidos oleico/linoleico en respuesta a la baja temperatura. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 28, n° 2, p.95-101.
- Nieto, A., Murillo, B., Troyo, E., García, J.L. & Ruíz, F. H. (2010). Water stress in two capsicum species with different domestication grade. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 12: 353360.
- Okeyo, A., and Ouma, G. (2008). Effects of washing and media on the germination of papaya (*C. papaya*) seeds. *Agricultura Tropica et Subtropica* 41 (1): 21-26.
- Ontiveros, Analí; Kohashi, J.; Yáñez, Petra; Acosta, J.; Martínez, E.; García, A. (2005). Crecimiento de la raíz del frijol con diferentes velocidades de secado del suelo. *Terra Latinoamericana*: 23 (3), julio-septiembre, pp. 311-320.
- Paredes, C. (2007). Bioquímica de la germinación. [En línea] Monografías.com. Agricultura y ganadería, Consultado: 1/12/2008. Disponible en: <<http://www.monografias.com/trabajos59/bioquimicagerminacion/bioquimicagerminacion2.shtml>>.
- Penichet, H., Cabrera, M., Pérez, C., Lago, E., Pérez, M. & Mendoza, M. (2006). Germinación de diferentes cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones de sequía. *Revista Agrotecnia de Cuba*. Disponible en: [www.actaf.co.cu/revistas/agrotecnia\\_05\\_2008/...1/DSEM57.pdf](http://www.actaf.co.cu/revistas/agrotecnia_05_2008/...1/DSEM57.pdf) [consultada junio 2011].
- Peretti, A. (1994). *Manual para Análisis de Semillas*. Buenos Aires: Ed. Hemisferio Sur S.A, 281 p. ISBN: 950 504 526 3.
- Rajjou, L.; M. Duval; Karine Gallardo; Julie Catusse; Julia Bally; Claudette Job and D. (2012). Job.Seed Germination and Vigor. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63:507–33.
- Ramón, M y Mendoza, C. (2002). Efecto del deterioro post-corte sobre la germinación de la semilla asexual de cinco variedades de caña de azúcar. *Rev. Fac. Agron.*, 19(4), p. 264-272. ISSN 0378-7818. Disponible en: <<http://www.scielo.org.ve/scielo.php>>.

- Rao, N. K.; J. Hanson; M. E. Dulloo; K. Ghosh; D. Novell y M. Larinde. (2007). Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioersivity International, Roma, Italia. 165 pp.
- Roos, E. (1986). Precepts of successful seed storage. In Physiology of seed deterioration. Spec. Pub. 11, ed. M. B. McDonal, Jr. And C. J. Nelson, Crop Science Society of America, Madison, WI. pp. 1-25.
- Rosa, Gema. (2015). Utilización de diferentes biopreparados de microorganismos nativos multipropósitos en la germinación de semillas de maíz, arroz y frijol. *Trabajo de Diploma*. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Sancti Spiritus “José Martí Pérez”. 38 p.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M. & Exxine, M. (2010). Effects of salt and drought stresses on germination, emergence and seedling growth of Durum wheath (*Triticum durum* Desf). *J. Agric. Res.* 5:2008-2016.
- Sobrevilla, J. A.; López, Maritza; López, Ana.; y Romero, Leticia. (2013). Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd).(citado el 15 de febrero de 2016). (Disponible de. <http://digitalcommons.unl.edu/hidalgo/12>)
- Sosa, L., A. Llanes, H. Reinoso, M. Reginato y V. Luna. (2005). Osmotic and specific ion effects on the germination of *Prosopis strombulifera*. *Annals of Botany* 96:261–267.
- Staselis, A., y Duchovskis. P. (2004). Impact of electromagnetic field on morphogenesis a physiological indices of tomato. *Intl. Agrophysics* 18(3), 277 283.
- Thanos, C., and Doussi, M. A. (1995). Ecophysiology of seed germination in endemic labiates of Crete. *Israel Journal of Plant Sciences*, 43(3), 227 237.
- Thanos, C., and Doussi, M. (1995). Ecophysiology of seed germination in endemic Labiates of Crete. *Israel Journal of Plant Science*, 43: 227-237.
- Tompsett, P., and Pritchard, H. (1998). The effect of chilling and moisture status on the germination, dessication tolerance and longevity of *Aeusculus hippocastanus* L., seed. *Annals of Botany*, 82: 249-261.

- Tompsett, P. B., and Pritchard, H. W. (1998). The Effect of Chilling and Moisture Status on the Germination, Desiccation Tolerance and Longevity of *Aesculus hippocastanum* L. *Seed Annals of Botany*, 82 (2), 249-261.
- Torres, Celina, Díaz, J., y Cabal, Paola. (2008). Efecto de campos magnéticos en la germinación de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Agronomía Colombiana*, vol. 26, núm. 2, pp. 177-185,
- Van Treuren, R., de Groot, E., y Van Hintum, T. (2013). Preservation of seed viability during 25 years of storage under standard gene bank conditions. *Genet Resources Crops Evolution.*, 60:1407–1421.
- Voysest, O. (2000). Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L): Legados de variedades de América Latina 1930 – 1999. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Walters, Christina., Ballesteros, D., y Vertucci, V. (2010). Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. *Plant Science*. 179: 565–573.
- Zevallos, B., Cejas, I., Rodríguez R., Yabor, Lourdes, Aragón, C., González, J., Engelmann, F., Martínez, M., y Lorenzo, J. (2013). Biochemical characterization of Ecuadorian wild *Solanum lycopersicum* Mill. Plants produced from non- cryopreserved and cryopreserved seeds. *CryoLetters*, 34(4): 413-421.