Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas 2016

Introducción a las Reglas ISTA
Capítulos 1–7, 9

Incluye cambios y correcciones editoriales adoptadas en la Reunión General Anual 2015, Montevideo, Uruguay

A partir del 1 de enero 2016

Note on the use of the translations

The electronic version of the International Rules for Seed Testing includes the English, French and German versions. If there are any questions on interpretation of the ISTA Rules, the English version is the definitive version.

Publicado por
The International Seed Testing Association (ISTA)
Zürichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Suiza

©2016 International Seed Testing Association (ISTA)

Online ISSN 2310-3655

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de ésta publicación puede ser reproducida, almacenada en ningún sistema de recuperación o trasmitida de cualquier forma o en cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia, grabación o de cualquier otro tipo, sin el permiso previo y por escrito de la ISTA.

Indice

Introducción a las Reglas ISTA .. I-1
I-1 Información general .. I-1
I-2 Directrices para propuestas de Reglas ISTA .. I-2
I-2.1 Propuestas relativas a métodos de análisis .. I-2
I-2.2 Propuestas para nuevas especies .. I-2
I-2.3 Otras propuestas .. I-3
Peso de mil semillas de variedades de semilla pequeña de *Poa pratensis* .. I-3
Form 1: Proposal for inclusion of new species in the ISTA Rules .. I-4

Capítulo 1: Certificados ISTA .. 1-1
1.1 Objeto .. 1-1
1.2 Definiciones .. 1-1
1.2.1 Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas .. 1-1
1.2.2 Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas .. 1-1
1.2.3 Certificado original .. 1-1
1.2.4 Duplicado del certificado .. 1-1
1.2.5 Certificado provisorio .. 1-1
1.2.6 Laboratorio acreditado .. 1-1
1.3 Condiciones para la emisión de certificados de la ISTA .. 1-1
1.4 Terminación de la Certificación ISTA .. 1-2
1.4.1 Consideraciones generales .. 1-2
1.4.2 Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas .. 1-3
1.4.3 Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas .. 1-3
1.4.4 Duplicado del certificado .. 1-3
1.4.5 Certificado provisorio .. 1-3
1.5 Indicación de los resultados .. 1-4
1.5.1 Muestreo y ensayos .. 1-4
1.5.2 Certificados .. 1-4
1.5.2.1 Muestreo: los ensayos de heterogeneidad para lotes de semillas en contenedores múltiples .. 1-4
1.5.2.1.1 El valor H del ensayo de heterogeneidad .. 1-4
1.5.2.1.2 El valor R del ensayo de heterogeneidad .. 1-4
1.5.2.2 Pureza .. 1-4
1.5.2.3 Ensayos de pureza de semillas recubiertas .. 1-5
1.5.2.4 Determinación de otras semillas por número .. 1-5
1.5.2.5 Determinación de otras semillas por número en las semillas recubiertas .. 1-6
1.5.2.6 Germinación .. 1-6
1.5.2.7 Germinación de las semillas recubiertas .. 1-7
1.5.2.8 Ensayo de tetrazolio .. 1-7
1.5.2.9 Ensayo de tetrazolio en semillas recubiertas .. 1-7
1.5.2.10 Ensayo de salud de las semillas .. 1-8
1.5.2.11 Ensayo de especies y variedades .. 1-8
1.5.2.11.1 Resultados del examen de semillas o plántulas individuales .. 1-8
1.5.2.11.2 Resultados de un examen de parcelas de campo .. 1-8
1.5.2.11.3 Indicación de las probabilidades de satisfacer lo presupuesto .. 1-8
1.5.2.12 Contenido de humedad .. 1-8
1.5.2.13 Determinación del peso .. 1-9
1.5.2.14 Embriones escindidos .. 1-9
1.5.2.15 Ensayo de las réplicas pesadas .. 1-9
1.5.2.16 Ensayo de rayos X .. 1-9
1.5.2.17 Ensayo del vigor de las semillas .. 1-9
1.5.2.17.1 Ensayo de conductividad .. 1-9
1.5.2.17.2 Ensayo de envejecimiento acelerado .. 1-9
1.5.2.17.3 Ensayo de deterioro controlado .. 1-10
1.5.2.17.4 Ensayo de emergencia de la radícula .. 1-10
1.5.2.18 Tamaño y clasificación de las semillas .. 1-10
1.5.2.19 Ensayo del promedio ponderado para lotes de semillas transportados a granel en contenedores .. 1-10
1.5.2.20 Mezclas de semillas .. 1-10
1.5.2.20.1 Pureza .. 1-10
1.5.2.20.2 Determinación de otras semillas por número .. 1-10
1.5.2.20.3 Germinación .. 1-10
1.5.2.20.4 Ensayo de tetrazolio .. 1-11
1.5.2.20.5 Determinación del peso .. 1-11
1.5.2.21 Organismos genéticamente modificados .. 1-11
1.5.2.21.1 Resultados de las pruebas cualitativas .. 1-11
1.5.2.21.2 Resultados cuantitativos obtenidos por ensayos múltiples cualitativos de individuos o grupos de semillas o plántulas .. 1-11
1.5.2.21.3 Las mediciones cuantitativas de OGM en muestras a granel .. 1-11
1.5.2.22 Información de resultados de ensayos no cubiertos por las Reglas .. 1-12
1.5.3 Información de la incertidumbre de medida en los certificados de la ISTA .. 1-12
1.5.4 Declaración que se refiere al cumplimiento de los requisitos normativos .. 1-12
1.6 Validez de un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas .. 1-12
1.7 Resultados disputados .. 1-12

Capítulo 2: Muestreo .. 2-1
2.1 Objeto .. 2-1

2.2 Definiciones ... 2-1
2.2.1 Lote de semillas ... 2-1
2.2.2 Muestra primaria ... 2-1
2.2.3 Muestra compuesta ... 2-1
2.2.4 Submuestra ... 2-1
2.2.5 Muestra remitida ... 2-1
2.2.6 Muestra duplicada ... 2-1
2.2.7 Muestra de trabajo ... 2-1
2.2.8 Sellado ... 2-1
2.2.9 Recipientes auto-sellados ... 2-1
2.2.10 Marcado/etiquetado ... 2-1
2.2.11 Tratamiento de semillas ... 2-1
2.2.12 Semillas en pellets ... 2-2
2.3 Principios generales ... 2-2
2.4 Aparatos ... 2-2
2.5 Procedimientos ... 2-2
2.5.1 Procedimientos para muestrear un lote de semilla ... 2-2
2.5.1.1 Preparación de un lote de semillas y las condiciones para el muestreo ... 2-2
2.5.1.2 Intensidad del muestreo ... 2-2
2.5.1.3 Toma de muestras primarias ... 2-3
2.5.1.4 Recepción de la muestra compuesta ... 2-4
2.5.1.5 Obtención de la muestra remitida ... 2-4
2.5.1.6 Envío de la muestra remitida ... 2-4
2.5.1.7 Almacenamiento de muestras remitidas antes del análisis ... 2-5
2.5.2 Procedimientos para la obtención de muestra remitida y de trabajo ... 2-5
2.5.2.1 Tamaño mínimo de la muestra de trabajo ... 2-5
2.5.2.2 Métodos de reducción de la muestra ... 2-5
2.5.2.2.1 Métodos con divisor mecánico ... 2-5
2.5.2.2.2 Método modificado de reducción a la mitad ... 2-6
2.5.2.2.3 Método de la cuchara ... 2-6
2.5.2.2.4 Método manual de reducción a la mitad ... 2-6
2.5.3 Almacenamiento de las muestras después del análisis ... 2-7
2.5.4 Condiciones para la emisión de un Certificado Internacional Naranja del Lote de Semillas ... 2-7
2.5.4.1 Tamaño del lote de semillas ... 2-7
2.5.4.2 Grandes lotes de semillas de *Poaceae* ... 2-8
2.5.4.2.1 Definiciones ... 2-8
2.5.4.2.2 Aprobación ... 2-8
2.5.4.2.3 Comprobación del muestreo y del análisis ... 2-8
2.5.4.2.4 Retiro de la aprobación ... 2-8
2.5.4.2.5 Responsabilidad ... 2-8
2.5.4.3 Marcado/etiquetado y sellado de envases ... 2-8
2.5.4.4 Muestreo del lote de semillas ... 2-9
2.5.4.5 Muestra remitida ... 2-9
2.5.4.6 Reducción de la muestra ... 2-9
2.5.4.7 Almacenamiento de las muestras remitidas después del análisis ... 2-9
2.6 Cálculo y expresión de los resultados ... 2-9
2.7 Indicación de los resultados ... 2-9
2.8 Tablas para tamaño del lote y tamaños de las muestras ... 2-11
Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables ... 2-12
Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos ... 2-19
Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales ... 2-24
2.9 Pruebas de heterogeneidad de los lotes de semillas en varios contenedores ... 2-33
2.9.1 La prueba H de valor ... 2-33
2.9.1.1 Definiciones de los términos y símbolos ... 2-33
2.9.1.2 Muestreo del lote ... 2-34
2.9.1.3 Procedimientos para el análisis ... 2-34
2.9.1.4 Uso de la Tabla 2D ... 2-35
2.9.1.5 Indicación de los resultados ... 2-35
2.9.2 Análisis del valor R ... 2-35
2.9.2.1 Definiciones de los términos y símbolos ... 2-35
2.9.2.2 Muestreo del lote ... 2-35
2.9.2.3 Procedimientos de análisis ... 2-35
2.9.2.4 Uso de las tablas ... 2-36
2.9.2.5 Indicación de los resultados ... 2-36
2.9.3 Interpretación de los resultados ... 2-36

Capítulo 3: El análisis de la pureza ... 3-1
3.1 Objeto ... 3-1
3.2 Definiciones ... 3-1
3.2.1 Semilla pura ... 3-1
3.2.2 Otras semillas ... 3-1
3.2.3 Materia inerte ... 3-1
3.3 Principios generales ... 3-2
3.4 Aparatos ... 3-2
3.4.1 Lupas, luz refleja y tamices ... 3-2
3.4.2 Sopladores de semilla ... 3-2
3.4.2.1 Calibración del soplador de semillas ... 3-2
3.4.2.2 Determinación de la velocidad del aire equivalente ... 3-3
3.4.2.3 Tipo de anemómetro ... 3-3
3.4.2.4 Calibración del anemómetro ... 3-3
3.5 Procedimiento ... 3-3
3.5.1 Muestra de trabajo ... 3-3
3.5.2 Separación ... 3-4
3.5.2.1 Todas las familias excepto *Poaceae* ... 3-4
3.5.2.2 *Poaceae* ... 3-4
Cariópsides ... 3-4
Floretes estériles ... 3-4
3.5.2.3 Semilla dañada ... 3-4
3.5.2.4 Especies indistinguibles ... 3-4
3.5.2.5 *Poa pratensis, Poa trivialis y Dactylis glomerata* ... 3-5
3.5.2.5.2 Separación de la fracción pesada ... 3-5
3.5.2.5.3 Separación de la fracción ligera ... 3-5

3.5.2.5.4 Procedimiento alternativo para otras *Poa* spp. clasificadas como otras semillas en *Poa pratensis* o ***Poa trivialis*** .. 3-6
3.5.2.5.5 Procedimiento para las semillas tratadas químicamente de especies para las que soplar es el método prescrito para la prueba de la pureza .. 3-6
3.5.2.6 Unidades de semillas múltiples (USM) .. 3-6
3.5.2.7 Procedimiento en caso de impurezas individuales con efecto indebido en los resultados .. 3-6
3.5.2.8 Apéndices adjuntos .. 3-6
3.5.2.9 Semillas aladas .. 3-6
3.6.Cálculo y expresión de los resultados .. 3-6
3.6.1 Muestra de trabajo conjunta .. 3-6
3.6.1.1 Prueba para el aumento de peso o pérdida durante el análisis .. 3-6
3.6.1.2 Cálculo de los porcentajes de los componentes .. 3-6
3.6.1.3 Procedimiento de redondeo .. 3-7
3.6.2 Dos medias muestras de trabajo .. 3-7
3.6.2.1 Prueba para el aumento de peso o pérdida durante el análisis .. 3-7
3.6.2.2 Cálculo de los porcentajes de los componentes .. 3-7
3.6.2.3 Prueba para la variación entre las dos medias muestras de trabajo .. 3-7
3.6.2.4 Procedimiento de redondeo .. 3-7
3.6.3 Dos o más muestras de trabajo conjuntas .. 3-7
3.6.3.1 Procedimientos .. 3-7
3.6.3.2 Prueba para variación entre muestras .. 3-8
3.6.3.3 Cálculo y procedimiento de redondeo .. 3-8
3.6.4 Cálculo para las especies difíciles de separar .. 3-8
3.6.5 Cálculo de las impurezas individuales que tienen un efecto indebido en los resultados .. 3-8
3.6.6 Estructuras de semillas brozosas .. 3-8
3.7 Indicación de los resultados .. 3-9
3.8 Definiciones de semilla pura .. 3-9
Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género .. 3-10
Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura .. 3-14
Tabla 3B Parte 3. Glosario .. 3-21
Tabla 3B Parte 3. Glosario (continuación) .. 3-22
3.9 Tablas de tolerancias .. 3-23

Capítulo 4: Determinación de otras semillas por número .. 4-1
4.1 Objeto .. 4-1
4.2 Definiciones .. 4-1
4.2.1 Otras semillas .. 4-1
4.2.2 Análisis Completo .. 4-1
4.2.3 Análisis limitado .. 4-1
4.2.4 Análisis reducido .. 4-1
4.2.5 Análisis reducido-limitado .. 4-1
4.3 Principios generales .. 4-1
4.4 Aparatos .. 4-1
4.5 Procedimientos .. 4-1
4.5.1 Muestra de trabajo .. 4-1
4.5.2 Determinación .. 4-2
4.5.3 Determinación de especies de *Orobanche* .. 4-2
4.5.3.1 Antecedentes .. 4-2
4.5.3.2 Submuestra remitida .. 4-2
4.5.3.3 Muestra de trabajo .. 4-2
4.5.3.4 Análisis visual .. 4-3
4.6 Cálculo y expresión de los resultados .. 4-3
4.7 Indicación de los resultados .. 4-3
4.8 Tablas de tolerancia .. 4-4

Capítulo 5: Análisis de germinación .. 5-1
5.1 Objeto .. 5-1
5.2 Definiciones .. 5-1
5.2.1 Germinación .. 5-1
5.2.2 Análisis doble .. 5-1
5.2.3 Análisis paralelo .. 5-1
5.2.4 Porcentaje de germinación .. 5-1
5.2.5 Estructuras esenciales de las plántulas .. 5-1
5.2.6 La regla del 50 % .. 5-1
5.2.7 Plántulas normales .. 5-2
5.2.7.1 Plántulas intactas .. 5-2
5.2.7.2 Defectos leves .. 5-2
5.2.7.3 Infección secundaria .. 5-3
5.2.8 Plántulas anormales .. 5-4
5.2.8.1 Anomalías de las plántulas .. 5-4
5.2.9 Unidades de semillas multigermen .. 5-5
5.2.10 Semillas no germinadas .. 5-6
5.2.10.1 Semillas duras .. 5-6
5.2.10.2 Semillas frescas .. 5-6
5.2.10.3 Semillas muertas .. 5-6
5.2.10.4 Otras categorías .. 5-6
5.2.11 Definiciones adicionales .. 5-6
5.3 Principios generales .. 5-8
5.4 Sustratos de cultivo .. 5-8
5.4.1 Definición .. 5-8
5.4.2 Especificaciones .. 5-8
5.4.3 Características del sustrato .. 5-8
5.4.3.1 Papel como sustrato .. 5-8
5.4.3.2 Arena como sustrato .. 5-8
5.4.3.3 Sustratos orgánicos .. 5-9
5.4.4 Agua .. 5-9
5.4.4.1 Especificaciones generales .. 5-9
5.4.5 Control de calidad .. 5-9
5.5 Material y aparatos .. 5-9
5.5.1 Contenedores .. 5-9
5.5.2 Equipos de conteo .. 5-9
5.5.2.1 Tableros de conteo .. 5-9
5.5.2.2 Contadores de vacío .. 5-9
5.5.3 Aparato de germinación .. 5-9
5.5.3.1 Campana de cristal o aparato Jacobsen .. 5-9
5.5.3.2 La incubadora de germinación y el cuarto de germinación .. 5-10
5.6 Procedimiento .. 5-10
5.6.1 Muestra de trabajo .. 5-10

5.6.2 Condiciones de análisis ... 5-10
5.6.2.1 Sustratos de cultivo ... 5-11
5.6.2.1.1 Métodos que utilizan papel ... 5-11
5.6.2.1.2 Métodos que utilizan arena o medios de cultivo orgánico ... 5-11
5.6.2.1.3 Métodos que utilizan una combinación de papel y arena ... 5-11
5.6.2.1.4 Suelo ... 5-11
5.6.2.2 Humedad y aireación ... 5-11
5.6.2.3 Temperatura ... 5-12
5.6.2.4 Luz ... 5-12
5.6.2.5 Elección del método ... 5-12
5.6.3 Procedimientos para promover la germinación de semillas en estado latente ... 5-12
5.6.3.1 Procedimientos para romper la dormancia fisiológica ... 5-12
5.6.3.2 Procedimientos para la eliminación de dureza seminal ... 5-13
5.6.3.3 Procedimientos para la eliminación de sustancias inhibidoras ... 5-14
5.6.3.4 Desinfección de la semilla ... 5-14
5.6.4 Duración del análisis ... 5-14
5.6.5 Evaluación ... 5-14
5.6.5.1 Plántulas ... 5-14
5.6.5.2 Unidades de semillas múltiples ... 5-15
5.6.5.3 Semillas no germinadas ... 5-15
5.7 Reanálisis ... 5-15
5.8 Cálculo y expresión de los resultados ... 5-16
5.8.1 Tolerancias ... 5-16
5.8.2 Resultados del redondeo ... 5-17
5.9 Indicación de los resultados ... 5-17
5.10 Métodos de germinación ... 5-20
Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas ... 5-21
Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos ... 5-32
Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales ... 5-41
5.11 Tablas de las tolerancias ... 5-52

Capítulo 6: La prueba bioquímica para la viabilidad: el ensayo topográfico de tetrazolio ... 6-1
6.1 Objeto ... 6-1
6.2 Definición ... 6-1
6.3 Principios generales ... 6-1
6.4 Reactivo ... 6-1
6.4.1 Solución de tetrazolio ... 6-1
6.4.2 Solución tampón ... 6-2
6.5 Procedimientos ... 6-2
6.5.1 Muestra de trabajo ... 6-2
6.5.2 Preparación y tratamiento de la semilla ... 6-2
6.5.2.1 Premojadura de la semilla ... 6-2
6.5.2.1.1 Mojadura lenta ... 6-2
6.5.2.1.2 Remojo en agua ... 6-2
6.5.2.2 Exposición de los tejidos antes de la tinción ... 6-2
6.5.2.2.1 Perforación de la semilla ... 6-3
6.5.2.2.2 El corte longitudinal ... 6-3
6.5.2.2.3 El corte lateral ... 6-3
6.5.2.2.4 Incisión transversa ... 6-3
6.5.2.2.5 Escisión del embrión ... 6-3
6.5.2.2.6 La eliminación de la cubierta de la semilla ... 6-3
6.5.2.3 Baja presión ... 6-3
6.5.3 Tinción ... 6-3
6.5.4 Evaluación ... 6-4
6.6 Cálculo, indicación de los resultados y tolerancias ... 6-4
6.7 Indicación de los resultados ... 6-5
6.8 Procedimientos estándar para el ensayo de tetrazolio ... 6-5
Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas ... 6-6
Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos ... 6-14
6.9 Tablas de tolerancias ... 6-24

Capítulo 7: Ensayo de salud de la semilla ... 7-1
7.1 Objeto ... 7-1
7.2 Definiciones ... 7-1
7.2.1 Salud de las semillas ... 7-1
7.2.2 Pretratamiento ... 7-1
7.2.3 Tratamiento de las semillas ... 7-1
7.2.4 Programa de validación ISTA del método de la Salud de las Semillas ... 7-1
7.3 Principios generales ... 7-1
7.4 Procedimientos ... 7-1
7.4.1 Muestra de trabajo ... 7-1
7.4.2 Tratamiento de semillas ... 7-2
7.4.3 Muestra para almacenamiento ... 7-2
7.4.4 Instrucciones específicas ... 7-2
7.5 Cálculo y expresión de los resultados ... 7-2
7.6 Indicación de los resultados ... 7-2
Table 7A. ISTA official seed health testing methods ... 7-3

Capítulo 9: Determinación del contenido de humedad ... 9-1
9.0 Método de referencia básico para la determinación del contenido de humedad ... 9-1
9.0.1 Necesidad del análisis de moler ... 9-1
9.0.2 Ensayo para aceptar el método con temperatura alta y constante ... 9-1
9.0.3 Ensayo para aceptar el método con temperatura baja y constante ... 9-1
9.1 Determinación del contenido de humedad mediante el método del horno a temperatura constante ... 9-1
9.1.1 Objeto ... 9-1
9.1.2 Definición ... 9-1

9.1.3 Principios generales .. 9-1
9.1.4 Aparatos .. 9-1
9.1.4.1 Molino .. 9-2
9.1.4.2 Horno con temperatura constante .. 9-2
9.1.4.3 Contenedores .. 9-2
9.1.4.4 Secador .. 9-2
9.1.4.5 Báscula .. 9-2
9.1.4.6 Tamices .. 9-2
9.1.4.7 Herramienta de corte .. 9-2
9.1.5 Procedimientos .. 9-2
9.1.5.1 Indicaciones generales y precauciones .. 9-2
9.1.5.2 Muestra de trabajo .. 9-2
9.1.5.3 Pesaje .. 9-3
9.1.5.4 Molienda .. 9-3
9.1.5.5 Corte .. 9-3
9.1.5.6 Presecado .. 9-3
9.1.5.7 Métodos prescritos .. 9-4
Tabla 9A Parte 1. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas agrícolas y hortícolas .. 9-4
Tabla 9A Parte 2. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas de árboles y arbustos .. 9-6
9.1.6 Cálculo y expresión de los resultados .. 9-8
9.1.6.1 Métodos con horno a temperatura constante .. 9-8
9.1.6.2 Tolerancias .. 9-8
9.1.7 Indicación de los resultados .. 9-8
9.2 Determinación del contenido de humedad mediante medidores de humedad .. 9-9
9.2.1 Calibración de los medidores de humedad .. 9-9
9.2.1.1 Objeto .. 9-9
9.2.1.2 Definiciones .. 9-9
9.2.1.3 Principios generales .. 9-9
9.2.1.4 Aparatos .. 9-9
9.2.1.5 Procedimientos .. 9-9
9.2.1.5.1 Precauciones .. 9-9
9.2.1.5.2 Muestra de calibración .. 9-9
9.2.1.5.3 Muestra de trabajo a partir de la muestra de calibración .. 9-10
9.2.1.5.4 Pesaje .. 9-10
9.2.1.5.5 Métodos prescritos .. 9-10
9.2.1.6 Cálculo y expresión de los resultados .. 9-10
9.2.1.6.1 Referencia método del horno .. 9-10
9.2.1.6.2 Medidores de humedad .. 9-10
9.2.1.6.3 Diferencias máximas admisibles .. 9-10
9.2.1.7 Resultados de las calibraciones .. 9-10
9.2.2 Determinación del contenido de humedad (medidores de humedad) .. 9-11
9.2.2.1 Objetos .. 9-11
9.2.2.2 Principios generales .. 9-11
9.2.2.3 Aparatos .. 9-11
9.2.2.4 Procedimientos .. 9-11
9.2.2.4.1 Precauciones .. 9-11
9.2.2.4.2 Muestra de trabajo .. 9-11
9.2.2.4.3 Pesaje .. 9-11
9.2.2.5 Cálculo y expresión de los resultados .. 9-11
9.2.2.6 Tolerancias .. 9-11
9.2.2.7 Indicación de los resultados del medidor de humedad .. 9-12
9.2.2.8 Control sistemático del medidor de humedad y de los resultados de contenido de humedad del horno .. 9-12
9.2.2.9 Comprobación de los resultados de diferentes medidores de humedad .. 9-12

Introducción a las Reglas ISTA

I-1 Información general

La International Seed Testing Association (ISTA) se estableció en 1924 para dar una visión de uniformidad en los análisis de semillas a nivel internacional. La misión actual de la ISTA es desarrollar, adaptar y publicar los procedimientos estándar para muestreo y análisis de las semillas, así como promover la aplicación uniforme de estos procedimientos para la evaluación de semillas objeto de comercio internacional. Por lo tanto, es una necesidad básica de los métodos de análisis de semillas que sean fiables y reproducibles entre los laboratorios miembros acreditados de la ISTA. Esto se logra a través de la publicación de las *Reglas Internacionales para el análisis de las semillas* (en lo sucesivo "Reglas ISTA"). El objetivo principal de las Reglas ISTA es proporcionar métodos de prueba para las semillas designadas para el desarrollo de cultivos o la producción de plantas. Además, la mayoría de los métodos de prueba también se pueden aplicar para la evaluación de la calidad de las semillas utilizadas como alimentos o para usos técnicos.

Los métodos de muestreo de las semillas y los análisis de la ISTA han sido desarrollados por sus miembros desde su creación en 1924. Los métodos han pasado por los estudios de validación apropiadas para asegurar que los procedimientos de ensayo den resultados confiables y reproducibles. A raíz de los acuerdos firmados entre los países miembros de ISTA, los reglamentos validados se han incluido en las Reglas ISTA.

Por lo tanto, los análisis de calidad de las semillas requieren métodos de ensayo y equipos que se han probado para garantizar que sean aptos para el propósito, es decir, validadas. El Programa de Validación del Método de la ISTA (véase Sección I-2) proporciona el mecanismo para la inclusión de los métodos de análisis en las Reglas ISTA.

La semilla es un producto biológico vivo y su comportamiento no se puede predecir con la certeza que caracteriza un análisis de material inerte o no biológico. Los métodos de análisis utilizados deben basarse en el conocimiento científico y la experiencia acumulada de los que trabajan en análisis de semillas y control de calidad. Esta experiencia se ofrece en gran medida por los miembros de los Comités Técnicos de la ISTA.

Las Reglas ISTA contienen 19 capítulos, 17 de los cuales proporcionan métodos de análisis internacionalmente aceptados para diversas características de calidad de las semillas. El Capítulo 2 (Muestreo) proporciona los métodos necesarios para el muestreo de lotes de semillas ya que por la ISTA debe ser siempre evidente una conexión directa entre el lote de semillas de la que se extrajo la muestra y los resultados de los ensayos de calidad realizados en ese lote de semillas. El "producto final) de un laboratorio acreditado de ISTA, precedido por las pruebas de calidad en un lote de semillas, es un Certificado ISTA. En el capítulo 1 se presenta información sobre el uso de los Certificados ISTA.

Cada uno de los 17 capítulos sobre métodos de ensayo incluye secciones sobre el Objeto (del ensayo), Definiciones (de los términos utilizados en el capítulo), Principios Generales (para el ensayo), Aparato (necesario para el análisis), procedimiento (cómo conducir la prueba), Cálculo y expresión de los resultados (específico para cada análisis), Indicación de los resultados (cómo reportar los resultados correctamente en un Certificado ISTA), y Tolerancias (tablas estadísticas para su uso en la determinación si los resultados son aceptables o no aceptables). Téngase en cuenta que para proporcionar una orientación adecuada, ha sido necesario en la sección Aparato referirse a la pieza de un determinado fabricante de equipos, esto no se debe interpretar que ISTA respalda esa pieza de equipo con preferencia o exclusión de productos equivalentes de otros fabricantes.

Las Reglas ISTA están concebidas para las principales especies de cultivo del mundo. Las especies están ampliamente clasificadas como agrícolas y vegetales, árboles y arbustos y flores, especias, hierbas y medicinales. ISTA fomenta propuestas para la incorporación de nuevas especies a las Reglas ISTA.

Los certificados ISTA sólo pueden ser emitidos por laboratorios ISTA acreditados. Para reportar sobre un certificado ISTA los resultados de los análisis de calidad de semillas, es obligatorio seguir estrictamente todos los requisitos de las Reglas ISTA.

ISTA también recomienda que sus Reglas sean utilizadas por todos los laboratorios de análisis de semillas (incluyendo laboratorios no miembros de la ISTA) bien para probar la semilla para las transacciones comerciales que no requieren el uso de un certificado ISTA (por ejemplo dentro de un país), o bien para la aplicación de leyes nacionales para el control de calidad de las semillas.

Para más información sobre las Reglas ISTA y su uso, por favor póngase en contacto con:

ISTA Secretariat
Zürichstrasse 50
CH-8303 Bassersdorf
Suiza
Tél: +41 44 838 6000
Fax: +41 44 838 6001

o visite el sitio web ISTA: www.seedtest.org

I-2 Directrices para propuestas de Reglas ISTA

Propuestas de enmienda a las Reglas ISTA o de Introducción de nuevas especies serán admitidas de cualquier fuente. ISTA opera como un sistema abierto y las propuestas no se limitan sólo a los miembros del ISTA. Cualquier propuesta deberá ser presentada a la Secretaría ISTA al menos seis meses antes de su Reunión Ordinaria.

Tras la recepción, la Secretaría de la ISTA puede enviar la propuesta al Comité Técnico ISTA pertinente o directamente al Comité de Reglas ISTA, que revisará todas las propuestas recibidas. El Comité Ejecutivo de la ISTA entonces aprobará una propuesta para la consideración de los miembros de la ISTA o solicitar más trabajos sobre la propuesta. Todas las propuestas de normas aprobadas se enviarán a los miembros de la ISTA dos meses antes de la Reunión Ordinaria. En la Reunión Ordinaria, los delegados votantes de la ISTA podrán votar para aceptar una propuesta (que luego será implementada en las Reglas ISTA, a partir del 1 de enero del año siguiente), retirar una propuesta (para un nuevo examen) o rechazar una propuesta.

I-2.1 Propuestas relativas a métodos de análisis

Todos los métodos de análisis de la calidad de las semillas, propuestos para su inclusión en las Reglas ISTA, deben haber pasado por el Programa ISTA de Validación del Método. Esto es necesario tanto para los nuevos métodos de análisis (es decir, no están en las Reglas ISTA) como las modificaciones de los métodos existentes ya incluidos en las Reglas ISTA. Está involucrado un proceso de cuatro pasos:

1) selección y desarrollo de métodos;
2) validación a través de pruebas comparativas;
3) revisión de los resultados de las pruebas comparativas y preparación de un Reportaje de Validación del Método;
4) aprobación del estado de validación por el pertinente Comité Técnico de la ISTA y preparación de una propuesta de Reglas ISTA para el método.

La aceptación final de la propuesta, por votación de los miembros de la ISTA en una Reunión Ordinaria, permitirá la publicación del método validado en las Reglas ISTA.

Más información sobre el Programa de Validación de los Métodos ISTA se puede obtener de la Secretaría ISTA.

I-2.2 Propuestas para nuevas especies

Para una propuesta de introducción de una nueva especie, se puede utilizar el “Form 1: Proposal for inclusion of new species in the ISTA Rules” en las páginas 4-6.

La siguiente información debe ser suministrada por el solicitante:

1. **Nombres de las especies.** Se deben dar tanto el nombre científico (incluido el autor) como los nombres y sinónimos comunes. Los nombres comunes serán utilizados por el Comité de Nomenclatura ISTA para actualizar el glosario multilingüe de los nombres comunes de las plantas. El Comité de Nomenclatura ISTA establecerá el nombre científico durante al menos seis años, por lo que las leyes y los acuerdos comerciales no deberían ser alterados con frecuencia. Si se necesitara ayuda se puede contactar el Comité de Nomenclatura ISTA para determinar el nombre científico correcto y su autor.
2. **Tamaño máximo del lote y tamaño de las muestras.** Propuestas para el tamaño máximo del lote deben tener en cuenta los principios generales que se han aplicado a las especies que ya están en las Reglas ISTA y la factibilidad de lograr lotes de semillas razonablemente homogéneos. El tamaño de la semilla es generalmente el factor importante para determinar el tamaño máximo del lote, pero esto también se ve influenciado por si la especie es para la agricultura o el uso en horticultura, una especie de árbol o arbusto, o una flor, especias, hierbas o especies medicinales. Esto, a su vez, determinará si las especies deben colocarse en la parte 1, 2 o 3, respectivamente, de la Tabla 2A. Propuestas para el tamaño máximo del lote y del tamaño de la muestra remitida deben entonces basarse en los que ya se encuentran en la parte correspondiente de la Tabla 2A. Para las especies agrícolas y hortícolas, la muestra remitida es mayor que para las otras especies, en relación a la pureza de la muestra de trabajo, basado en el peso de 2500 semillas, para permitir la determinación de otras especies por número, basado en 10 veces el peso de pureza.
3. **Definición de semilla pura.** Las Reglas ISTA y el *Handbook of Pure Seed Definition* ya enumeran muchas definiciones de semillas puras. Se debe adoptar la más adecuada. Si ninguna de ellas se aplica, se debe presentar una propuesta de una nueva definición.

4. **Métodos de análisis de germinación validados.** Los métodos propuestos deben haber sido validados, ya sea con análisis con la colaboración multilaboratorio o con la validación por pares *(peer validation)* (véase Programa ISTA Método de validación). En cuanto a los requisitos, se pueden obtener consejos de la Comisión de germinación ISTA. Por favor, indique los datos necesarios para la inserción en la Tabla 5A.
5. **Procedimientos de análisis con tetrazolio.** Si se conocen se deben alcanzar procedimientos para la prueba de tetrazolio. Se puede presentar una propuesta para modificar el capítulo 6 después de la validación del método apropiado.
6. **Métodos de determinación de humedad validados.** Si el método es diferente al método de referencia (por ejemplo de baja temperatura constante), debe ser proporcionado, para la determinación de la humedad, un método validado.
7. **Peso de mil semillas**
8. **Identificación varietal.** Utilizando técnicas actuales, es posible verificar un descriptor para comprobar la pureza varietal en algunas especies. Por favor indique las técnicas validadas.
9. **Análisis de salud de las semillas.** Los métodos propuestos deben haber sido validados, ya sea con análisis con la colaboración multilaboratorio o con la validación por pares *(peer validation)* (véase Programa ISTA Método de validación). Asesoramiento en cuanto a los requisitos se puede obtener de la Comisión de Salud de las Semillas ISTA.

I-2.3 Otras propuestas

Se podrá proponer un cambio en el texto existente (por ejemplo la modificación de una definición) o la introducción de un nuevo texto (por ejemplo la introducción de una nueva definición) en un capítulo de las Reglas ISTA. Se debe enviar directamente a la Secretaría ISTA si la propuesta no implica directamente un método de ensayo o una nueva especie.

Peso de mil semillas de variedades de semilla pequeña de *Poa pratensis*

Una determinación del peso de mil semillas se debe realizar en al menos 20 muestras de diferentes lotes de semillas antes de que una variedad con semillas pequeñas pueda ser incluida en la tabla 3A, compuestos por semillas cultivadas ya sea en dos años de cosecha diferentes o en dos países diferentes.

La determinación del peso de mil semillas debe llevarse a cabo sobre semillas puras, obtenidas por soplado de una muestra de 1 g de *Poa pratensis* utilizando el ajuste del ventilador estándar (factor 1,00). Sólo la semilla que queda en la fracción pesada puede ser utilizada para el peso de mil semillas. Consulte el Capítulo 10 de las Reglas ISTA para el procedimiento de determinación del peso.

Los resultados deben ser presentados a la Comisión de Pureza ISTA con una solicitud de cambio de las Reglas ISTA.

Form 1: Proposal for inclusion of new species in the ISTA Rules

Note: this form is also available on the ISTA web site (www.seedtest.org/mv-prog)

1. Scientific name of proposed species

(Family)	Genus	Species	(Nominated Authority)

Genus and species names appear in List of Stabilized Plant Names: Yes/No
Known synonyms: _____
Common plant name: _____ in _____ (Member country)
(required for Multilingual Glossary)

2. Lot and sample weights

(Information as it should appear in Table 2A)

Species	Maximum weight of lot (kg)	Minimum submitted sample (g)	Minimum working samples (g)	
			Purity analysis (3.5.1)	Count of other species (4.5.1)

3. Pure Seed Definition

(Table 3B Part 1)
The following Pure Seed Definition (PSD) covers the proposed species:

Genus	Family	PSD number	Chaffiness

No existing definition covers this species:	

Distinguishing characteristics of this species:

(List distinguishing characteristics. Attach drawings, if available, and be prepared to send to the Secretariat five seed samples from well-processed, as well as from incompletely cleaned, seed.)

4. Validated germination test method(s)

(Information as it should appear in Table 5A)

Species	Prescriptions for:				Additional directions incl. recommendations for breaking dormancy
	Substrate	Temperature (°C)	First count (d)	Final count (d)	

5. Validated tetrazolium test procedure

(Information as it should appear in Table 6A)

Species	Pretreatment: type/minimum time (h)	Preparation before staining	Staining solution (%)	Optimum staining time (h)	Preparation for evaluation	Permitted non-viable tissue	Remarks

(If no existing drawings apply, attach if available)

6. Validated moisture test methods

Specify appropriate methods or details for inclusion in Table 9A Part 1 or 2:

Species	Grinding/cutting (9.1.5.4, 9.1.5.5)	High temperature	Drying at high temperature (h)	Predrying requirement (9.1.5.6)	Remarks
(Part 1)					(Not applicable)
(Part 2)		(Not applicable)	(Not applicable)	(Not applicable)	

7. Thousand-seed weight = _____ g

8. Validated varietal identification method (attach separate sheet, if necessary)

_____

Supporting evidence for proposal

9. Number of national seed analysis certificates issued per year:

_____

10. Other countries or laboratories testing the proposed species:

_____ _____

_____ _____

Submitted by:

Signature:

Date:

Capítulo 1: Certificados ISTA

1.1 Objeto

El objeto es establecer reglas para la emisión de Certificados ISTA de análisis de las semillas. Los certificados completos están disponibles sólo en los laboratorios miembros acreditados ISTA y sólo deben ser emitidos de acuerdo con las Reglas ISTA vigentes.

1.2 Definiciones

Los Certificados ISTA en blanco para el análisis de las semillas son proporcionados por ISTA y sólo se dispensarán a los laboratorios acreditados (véase 1.2.5) para indicar los resultados de los ensayos. Estos certificados completados son propiedad de la ISTA y sólo pueden ser emitidos bajo la autoridad de la ISTA.

1.2.1 Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas

Un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas *(Orange International Seed Lot Certificate)* se emite cuando tanto el muestreo del lote que el ensayo de la muestra, se han llevado a cabo bajo la responsabilidad de un laboratorio acreditado, o cuando muestras tomadas del lote y el ensayo de la muestra, se llevan a cabo bajo la autoridad de diferentes laboratorios acreditados. Debe declararse cuando el laboratorio acreditado responsable de los controles es diferente a lo de la realización del ensayo (véase 1.4.2). El procedimiento seguido enlaza el Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas con el lote de semillas mismo. El certificado es de color naranja.

Un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas también se puede emitir, sin más muestreo o ensayo, por una parte (sublote) de un lote de semillas que se ha muestreado y ensayado y para el que se ha emitido un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas. El certificado para el sublote debe llevar a los mismos resultados del ensayo, según lo reportado por el lote de semillas original.

Los resultados indicados en un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas se refieren estrictamente al lote como un todo en el momento del muestreo.

1.2.2 Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas

Un Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas *(Blue International Seed Sample Certificate)* se emite cuando la toma de muestras de un lote no es bajo la responsabilidad de un laboratorio acreditado. El laboratorio acreditado es responsable sólo de ensayar la muestra remitida. No es responsable de la relación entre la muestra y cualquier lote de semillas de las que puede haber sido derivado. El certificado es de color azul.

Los resultados indicados en un Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas se refieren estrictamente a la muestra en el momento de su recepción.

1.2.3 Certificado original

Un certificado original es un certificado ISTA emitido después de la realización de un ensayo o de ensayos. Está marcado ORIGINAL.

1.2.4 Duplicado del certificado

Un duplicado del certificado es una copia exacta impresa, no una fotocopia, de un certificado original ISTA, marcado DUPLICADO.

1.2.5 Certificado provisorio

Un certificado provisorio es un certificado ISTA emitido antes de la realización de un ensayo o de ensayos. Está marcado PROVISORIO y debe incluir una declaración bajo “Otras determinaciones” *(Other determinations)* de que se publicará, al finalizar, un certificado original definitivo.

1.2.6 Laboratorio acreditado

Un laboratorio acreditado es un laboratorio miembro acreditado por la ISTA autorizado por el Comité Ejecutivo de la ISTA en virtud del Artículo 4 (i) de la ISTA para el muestreo y ensayo de semillas y para la emisión de certificados de la ISTA.

1.3 Condiciones para la emisión de certificados de la ISTA

Los certificados ISTA deben ser emitidos sólo en formularios obtenidos de la Secretaría ISTA y aprobados por el Comité Ejecutivo ISTA. Hay dos tipos de certificados: el Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas y el Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas, tal como se definen en el punto 1.2.

A petición del solicitante podrán ser emitidos duplicados y certificados provisorios tal como se definen en el punto 1.2.

De un certificado original puede ser emitido un duplicado. Puede ser emitido más de un duplicado del certificado.

Un certificado provisorio puede ser emitido por cualquier resultado de ensayo(s) de la ISTA que luego se combinan en un certificado original. Más de un certificado provisorio puede ser emitido.

Un certificado ISTA no tiene que ser emitido si un solicitante cancela la prueba.

Un certificado ISTA puede ser emitido solamente por el laboratorio de análisis de semillas que, o bien lleva a cabo todas las pruebas para ser reportadas, o el muestreo por un laboratorio subcontratado para alguna de las pruebas que deben notificar (véase 1.4.2 y 1.4.3) y bajo las condiciones listadas a continuación:

a) Un laboratorio para emitir certificados debe estar actualmente autorizado para ello por el Comité Ejecutivo.
b) La semilla ensayada debe ser de una especie incluida en la Tabla 2A (Lote y pesos de las muestras) de las Reglas ISTA. Cuando en otras tablas, tales como la Tabla 5A y la Tabla 6A, se prescriben métodos para un grupo de especies, se pueden considerar a cubrir sólo aquellas especies enumeradas específicamente en la Tabla 2A.
   En consecuencia, no se podrán emitir certificados de especies no incluidas en la Tabla 2A de las actuales Reglas ISTA, excepto en el caso de mezclas de semillas, donde por las especies ensayadas se enseña como "Mezcla de semillas".
c) Los ensayos se llevan a cabo de acuerdo con las normas ISTA. Sin embargo, adicionalmente y, a petición, pueden presentarse en un certificado ISTA los resultados de ensayos que no están cubiertos por estas reglas (véase 1.5.2.22).
   Los resultados de análisis no cubiertos por las actuales normas ISTA, pueden incluirse en un certificado sólo si también se reportan los resultados de al menos un ensayo cubierto por las Reglas ISTA.
d) Para ser indicado sobre un certificado ISTA el resultado de una determinación del contenido de humedad, la muestra debe ser remitida en un envase intacto, a prueba de humedad del cual ha sido excluido el aire tanto como sea posible (véase 9.1.5.1).
e) Para indicar los resultados de los ensayos que hay en las Reglas ISTA, el laboratorio debe estar acreditado para estos análisis, ya sea directamente o a través de subcontratación a otro laboratorio acreditado para estos ensayos.
f) La evaluación de cualquier atributo reportado en un certificado debe calcularse a partir de ensayos realizados sobre una muestra remitida.
g) En el caso de Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas:
   – el lote de semillas debe cumplir con los requisitos prescritos en 2.5.4;
   – la muestra remitida se deberá realizar y tratar de acuerdo con 2.5.4.
h) Para un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas, cada contenedor en el lote debe estar marcado, etiquetado y sellado de conformidad con 2.5.4.3.
i) Para un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas que se emite por un sublote, el sublote debe representar un mínimo del 20% del peso del lote de semillas originales. Un máximo de cinco Certificados Internacionales Naranjas de un Lote de Semillas podrá expedirse para sublotes de un mismo lote original de semillas.
j) Para un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas, la muestra remitida debe ser ensayada por un laboratorio acreditado. El laboratorio que emite el certificado debe asegurarse de que el muestreo, el sellado, la identificación, los ensayos y la expedición del certificado está de acuerdo con las normas ISTA, aunque sea permisible la subcontratación del muestreo y/o del ensayo a otro laboratorio acreditado. El laboratorio que lleva a cabo el muestreo debe proporcionar toda la información que es necesaria para completar el Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas.
   La identificación del lote de semillas ("Marcas del lote"; véase 2.2.10) puede tomar la forma de una serie secuencial de caracteres o de un solo carácter de referencia. Cada contenedor dentro del lote y sublote debe ser identificado de tal manera que los envases del lote y sublote pueden ser fácilmente reconocidos por la información proporcionada en el certificado emitido. Cada contenedor de un sublote debe estar marcado con la identificación del lote de semilla original.
   Cuando el lote de semillas se encuentra en un país diferente al laboratorio de muestreo, deben ser reportados, ya sea en "Muestreado por" *(Sampling by)* o en "Observaciones adicionales" *(Additional observations)* el país en el que se han tomado muestras del lote de semillas.

1.4 Terminación de la Certificación ISTA

1.4.1 Consideraciones generales

La Certificación ISTA debe ser completada a máquina o con impresora y se puede completar en cualquier idioma. No se podrá expedir un certificado que muestra signos de modificación, alteración o borradura.

Un certificado terminado, deberá indicar la siguiente información:

a) El nombre y la dirección del laboratorio que lo ha emitido; el laboratorio debe estar en la lista de los laboratorios miembros de ISTA acreditados.
b) Las fechas, escritas en el formato ISO 8601: el año en su totalidad - mes - día, con dos cifras tanto para el mes y el día (por ejemplo 2007-07-25).

c) El nombre científico de la especie estudiada, que se enumeran en las actuales normas ISTA, y (en la mayoría de los casos) también en la *ISTA List of Stabilized Plant Names*. Cuando es imposible para determinar la especie con certeza sobre la base de caracteres de semillas, debe indicarse sólo el nombre del género (ejemplo: *Malus* sp.). En el caso de mezclas de semillas, debe ser introducido de las especies ensayadas "Mezcla de semillas".
d) El nombre y la dirección del solicitante. Según lo declarado por el solicitante debe ser introducida otra información especificada por el solicitante, como país de origen, especie, variedad, peso del lote y sublote, la certificación y la categoría de referencia del lote del solicitante.
Nota: a petición del solicitante, el nombre y la dirección del solicitante puede omitirse.
e) La firma del Jefe del laboratorio que emite el certificado o su cesionario. Puede ser una firma física o electrónica, cuyo uso está autorizado por el jefe del Laboratorio.
f) Bajo "Estado del certificado" *(Status of certificate)*, la palabra "ORIGINAL", "PROVISORIO" o "DUPLICADO", según corresponda.

1.4.2 Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas

Se afirma en la parte posterior del Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas:

"Certifico que el muestreo, el sellado y los ensayos se han llevado a cabo de acuerdo con las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas de la ISTA y que se han hecho los ensayos en un laboratorio acreditado por la International Seed Testing Association para emitir Certificados Internacionales de Análisis de Semillas".

El Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas completado, deberá presentar las siguientes informaciones:

a) nombre, dirección, código miembro de la ISTA y el sello del laboratorio que emite el certificado;
b) nombre y código miembro de la ISTA, responsable del laboratorio que hizo el muestreo;
c) la identificación del lote de semillas (por ejemplo las marcas del lote);
d) bajo "sellado del lote": el método de sellado (por ejemplo puntos, sellado metálico) y/o la autoridad (por ejemplo laboratorio ISTA, Ministerio).
e) número de contenedores para el que se emite el certificado;
f) fecha de la toma de las muestras;
g) fecha en que la muestra fue recibida por el laboratorio de ensayo;
h) fecha de conclusión del ensayo;
i) lugar, país y fecha de emisión del certificado;
j) ensayo o número de la muestra del laboratorio que hizo el ensayo;
k) los resultados de los análisis;
l) en el caso de certificados para los sublotes, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*: "Los resultados indicados representan el muestreo obtenido del lote original de semillas de ... kg".
m) país en el que se han tomado las muestras del lote de semillas, cuando el lote de semillas se encuentra en un país diferente al laboratorio de muestreo y reportado como "Muestreado por" *(Sampling by)* o "Observaciones adicionales" *(Additional observations)*;
n) la firma del Jefe del Laboratorio de emisión del certificado o de su autorizado que confirma la declaración, en la parte posterior del certificado, como verdadera.

1.4.3 Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas

El Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas (*Blue International Seed Sample Certificate*) se refiere sólo a la muestra remitida para ensayo.

Se afirma en la parte posterior del Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas:

"Certifico que el ensayo se ha llevado a cabo de acuerdo con las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas de la ISTA y que los ensayos se han realizado en un laboratorio acreditado por la International Seed Testing Association para emitir Certificados Internacionales de Análisis de Semillas".

El certificado terminado deberá presentar las siguientes informaciones:

a) nombre, dirección, código miembro de la ISTA y el sello del laboratorio que emite el certificado;
b) fecha en que la muestra fue recibida por el laboratorio de ensayo;
c) fecha de conclusión del ensayo;
d) lugar, país y fecha de emisión del certificado;
e) ensayo o número de la muestra del laboratorio que hizo el ensayo;
f) resultados de los ensayos
g) la firma del Jefe del Laboratorio de emisión del certificado o de su autorizado que confirma la declaración, en la parte posterior del certificado, como verdadera.

1.4.4 Duplicado del certificado

Un duplicado del Certificado ISTA puede ser emitido a petición del solicitante.

1.4.5 Certificado provisorio

Un certificado ISTA provisorio puede ser emitido a petición del solicitante.

1.5 Indicación de los resultados

1.5.1 Muestreo y ensayos

De una operación de muestreo, sólo una muestra puede ser remitida al ensayo. La muestra se puede someter a uno o más de los ensayos descritos en las Reglas ISTA conforme a lo solicitado por el demandante. Sin embargo, en ciertas situaciones (véase 2.5.1.6) se requiere la remisión de submuestras embaladas por separado resistentes a humedad en la misma operación de muestreo unida a la muestra remitida.

1.5.2 Certificados

Los resultados de los ensayos, pueden presentarse en uno o más certificados de la ISTA, por separado o combinados.

Los resultados del ensayo deben presentarse de acuerdo a las reglas para el cálculo, expresión y notificación de los resultados en el capítulo correspondiente de las Reglas ISTA. Si hay un espacio en el certificado para ciertas determinaciones que no se hagan o no sean aplicables, debe ser colocado "N" en el espacio de "no ensayado".

1.5.2.1 Muestreo: los ensayos de heterogeneidad para lotes de semillas en contenedores múltiples

1.5.2.1.1 El valor H del ensayo de heterogeneidad

El resultado del valor H en el ensayo de heterogeneidad de los lotes de semillas en contenedores múltiples, debe ser reportado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

- $\overline{X}$: promedio de todos los valores X determinados para el lote en relación con el atributo adoptado;
- N: número de muestras de los recipientes independientes;
- No: número de recipientes del lote;
- el valor calculado de H;
- la declaración: "Este valor de H indica/no indica heterogeneidad significativa".

Nota: el valor H no debe calcularse o indicarse si $\overline{X}$ está fuera de los límites siguientes:

- componentes de pureza: por encima del 99,8 % o por debajo del 0,2 %;
- germinación: por encima del 99,0 % o por debajo del 1,0 %;
- número de semillas especificadas: por debajo de dos por muestra.

1.5.2.1.2 El valor R del ensayo de heterogeneidad

El resultado del valor R del ensayo de heterogeneidad de los lotes de semillas en contenedores múltiples debe ser reportado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

- $\overline{X}$: promedio de todos los valores X determinados para el lote en relación con el atributo adoptado;
- N: número de muestras de los recipientes independientes;
- No: número de recipientes del lote;
- el valor de R calculado;
- la declaración: Este valor de R indica/no indica heterogeneidad significativa".

1.5.2.2 Pureza

Los resultados de un ensayo de pureza deben ser indicados en los espacios correspondientes de la siguiente manera:

- El nombre científico de la especie de semilla pura, de acuerdo con la Tabla 2A (por ejemplo *Triticum aestivum*). Cuando no sea posible determinar la especie con certeza sobre la base de características de la semilla, sólo deberá indicarse el nombre del género (por ejemplo *Malus* sp.).
- El porcentaje en peso de semillas puras, materia inerte y otras semillas, dado a un decimal. El porcentaje de todos los componentes deben sumar 100 %. Componentes por valor de menos de 0,05 % se deben declarar como "Rastro" o "TR" (de "*Trace*"). Si no se encuentra ninguna materia inerte u otras semillas, esto debe ser reportado como "0.0".
- El tipo de materia inerte.
- Donde pertinente, el nombre científico de cada especie de otras semillas que se encuentra, de acuerdo con la corriente ISTA Lista estabilizadas de nombres de plantas (*List of Stabilized Plant Names*), disponible en *www.seedtest.org/stablist* (por ejemplo *Elytrigia repens*).
- Cuando el peso de la muestra de trabajo que se ensaya para la pureza es igual o no más del 10 % más alto que el peso especificado en la Tabla 2A, columna 4 (Análisis de pureza), no se requiere ninguna declaración con respecto al peso de la muestra de trabajo en el Certificado ISTA.
- Cuando el peso de la muestra de trabajo utilizada para ensayos para determinar la pureza se desvía de lo especificado en la Tabla 2A, columna 4, deberá ser indicado en el Certificado ISTA el peso real de la muestra de trabajo pesado según 3.5.1, usando uno de los siguientes puntos, según sea el caso:
  a) Cuando se ensaya un peso que supera en un 10 % el peso especificado en la Tabla 2A, columna 4, indique bajo otras determinaciones que: "Pureza: ... g"
  b) Cuando se ensaya un peso que se estima contenga 2500 unidades de semillas, indique bajo otras determinaciones que: "Pureza: (aprox. 2500 semillas): ... g"

c) Cuando la muestra remitida recibida para los ensayos de pureza pesa menos que el peso en la Tabla 2A, columna 4, indique de acuerdo con 2.5.4.5 bajo otras determinaciones usando la corriente declaración: "La muestra remitida pesaba sólo ... g y no está en conformidad con las Reglas Internacionales para el Ensayo de Semillas".

– Si se encuentran semillas aladas, el porcentaje de semillas con alas (como se define en Definiciones de semilla pura 47 y 51).

A petición, la siguiente información debe ser comunicada bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

– El porcentaje en peso de una particular especie, puesto inmediatamente después del nombre de la especie, al 0,1 % más cercano. Se muestran primero las especies para las que se ha solicitado el porcentaje en peso.
– Otras semillas pueden ser divididas en "semillas de otros cultivos" y "semillas de malas hierbas". En este caso, se deben introducir las palabras "Semillas de otros cultivos", seguidas por el porcentaje en peso de semillas de otros cultivos y el nombre (s) de las especies encontradas. Este procedimiento también debe ser utilizado para "*Weed seeds*" (Semillas de malas hierbas).
– Las unidades de semillas múltiples deben ser reportadas como "% USM".
– Las semillas con apéndices adjuntas deben incluirse en "% semillas con apéndices unidas".
– Los tipos de materia inerte, junto con el porcentaje en peso de cualquier tipo particular (con un decimal).

Los porcentajes pueden ser reportados a más de un decimal si así lo solicita.

1.5.2.3 Ensayos de pureza de semillas recubiertas

El resultado de un ensayo de pureza de las semillas recubiertas se debe indicar de la siguiente manera:

– Tras el nombre de la especie, deben estar claramente indicadas las palabras "semillas en pellets", "semillas incrustadas", "semillas en gránulos", "semillas en cintas" o "semillas en matas", según el caso.
– Los resultados deben ser indicados a un decimal y el porcentaje de todos los componentes deben sumar 100 %. Se deben declarar como "Traza" o "TR" (de "*Trace*") los componentes con valor de menos de 0,05 %. Si no se encuentra ninguna materia inerte u otras semillas, esto debe ser reportado como "0.0".
– Solamente en el caso de semillas peletizadas deberá indicarse el porcentaje de semillas puras peletizadas, materia inerte y semillas no peletizadas en los espacios previstos para "Semillas puras", "Materia inerte", y "Otras semillas", respectivamente.
– El nombre y el número de las semillas de cada especie que se encuentra en el examen de 100 semillas retiradas de las pastillas o cintas deben ser reportados en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*.

A petición, puede ser comunicada la siguiente información bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

– Ensayo de pureza de las semillas depeletizadas. Los componentes (semillas puras, otras semillas y materiales inertes) se pueden indicar como porcentaje de su peso total, ignorando el material de granulación.
  El porcentaje de material peletizado se debe indicar por separado sólo bajo petición. El resultado de este ensayo se indica bajo: "peso de ... materia excluida".
– Pureza de las semillas eliminadas de las cintas. Los componentes (semillas puras, otras semillas y materia inerte) pueden indicarse como porcentaje de su peso total, ignorando el material de la cinta. El resultado de esta prueba se registra bajo: "peso de ... materia excluida".

1.5.2.4 Determinación de otras semillas por número

El resultado de una determinación de otras semillas por número debe ser indicado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* de la siguiente forma:

– El peso real de las semillas examinadas con el número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1.
– El nombre científico y el número de semillas de cada especie buscada y encontrada en este peso.
– Solamente se comunica el nombre del género si no es posible determinar con certeza sobre la base de características de la semilla (por ejemplo *Malus* sp.).
– Si el peso indicado en la Tabla 2A ha sido ensayado para todas las demás especies presentes, entonces se deben introducir las palabras "Ensayo completo", junto con el peso de semillas examinadas.
– Si el ensayo fue de sólo un rango limitado de otras especies, entonces se deben introducir las palabras "Ensayo limitado".
– Si el peso ensayado para todas las demás especies fue menor que el peso prescrito, entonces se deben introducir las palabras "Ensayo reducido".
– Si el peso ensayado fue menor que el peso fijado en la Tabla 2A y sólo ha sido examinada una gama limitada de otras especies, entonces se deben introducir las palabras "Ensayo reducido-limitado".
– Si ha sido ensayada una muestra de al menos 25 000 semillas y esta muestra estaba por debajo del peso fijado en la Tabla 2A, entonces se debe introducir el peso de las semillas ensayadas y la declaración "Ensayo basado sobre 25 000 semillas como mínimo".

A petición, los resultados pueden ser expresados además de alguna otra forma, tales como "peso encontrado de las semillas" o "número de semillas por kilogramo".

A petición, la presencia de especies de *Orobanche* sólo puede ser indicado en un Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas (véase 1.2.2) y debe ser indicado como: Ensayo para la presencia de especies de *Orobanche*: "... semillas de *Orobanche* spp. han sido encontradas en ... g de semillas examinadas".

Si no se han encontrado semillas puede ser indicado como: "Ninguna semilla de *Orobanche* spp. ha sido encontrada en ... g de semillas examinadas".

El peso de la muestra ensayada debe ser indicado de acuerdo con el número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1.

1.5.2.5 Determinación de otras semillas por número en las semillas recubiertas

El resultado de una determinación de otras semillas por número en las semillas recubiertas debe ser indicado de la siguiente manera:

- Tras el nombre de la especie, deben estar claramente introducidas las palabras "semillas en pellets", "semillas incrustadas", "semillas en gránulos", "semillas en cintas" o "semillas en matas", según el caso.
- Debe introducirse en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, el peso real (o la longitud de la cinta, o el área de la mata) y el número aproximado de semillas peletizadas examinadas, junto con el nombre científico y el número de semillas de cada especie buscada y encontrada en este peso, longitud o área.

A petición, el resultado puede ser indicado además de alguna otra forma, como el número de semillas por kilogramo, por metro o por metro cuadrado.

1.5.2.6 Germinación

El resultado de un ensayo de germinación debe ser indicado en los espacios correspondientes de la siguiente manera:

- La duración real de la prueba (en días, excluyendo el período de tratamiento especial o el método utilizado para promover la germinación);
- Los porcentajes, calculados al número más cercano entero (5.8.2) de plántulas normales, semillas duras, semillas frescas, plántulas anormales y semillas muertas. Si se determina que el resultado de cualquiera de estas categorías es cero, se debe reportar como "0".
- Se debe indicar sólo el porcentaje de plántulas normales si un solicitante pide que el ensayo se termine cuando la muestra alcanza un porcentaje de germinación predeterminado, antes del recuento final. Los resultados de las otras categorías (plántulas anormales, semillas duras, semillas frescas y las semillas muertas) deben ser indicados como "N", debido a que no se han determinado.

Debe ser indicada la siguiente información adicional, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*:

- el número de semillas ensayadas, si hay menos de 400 semillas;
- el método de germinación utilizando las abreviaturas utilizadas en la Tabla 5A, incluyendo al menos sustrato y temperatura;
- cualquier tratamiento especial o método utilizado para promover la germinación (5.6.3);
- la duración en días del tratamiento especial o método utilizado para promover la germinación, excepto en el caso de prealmacenamiento;
- el porcentaje de germinación obtenido en el plazo establecido, si el período de germinación se extendió más allá del plazo indicado en la Tabla 5A. La declaración se debe escribir como sigue: "Después del prescrito periodo de ... días, habían ... % plántulas normales";
- el método para la evaluación de las semillas frescas (disección, tetrazolio o embrión escindidos - véase el párrafo 5.6.5.3.) cuando se cree que está presente el 5 % o más de semillas frescas.
- Si un solicitante pide que el ensayo de germinación se termine cuando la muestra alcanza un porcentaje de germinación predeterminado, la siguiente declaración: "A petición del solicitante, se dio por terminado el ensayo de germinación después de ... días. El período de prueba que se establece es de ... días".

Cuando en la Tabla 5A Parte 2 se prescriben ensayos dobles se indica, en el espacio correspondiente en el Certificado ISTA, el resultado del primer ensayo con el tratamiento para romper la dormancia mientras que el resultado del segundo ensayo, sin necesidad de tratamiento para romper la dormancia, es comunicado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*.

A petición, se puede indicar la siguiente información de la siguiente manera:

- el resultado de los ensayos paralelos o cualquier ensayo adicional;
- la viabilidad de las semillas no germinadas y el método utilizado para determinarla;
- las categorías de semillas germinadas (enumeradas en 5.6.5.3) y el método utilizado para su determinación;
- en el caso de unidades de semillas multigermen: el número de plántulas normales producido por 100 unidades, y la proporción de unidades de producción de una, dos o más de dos plántulas normales.

1.5.2.7 Germinación de las semillas recubiertas

El resultado de un ensayo de germinación de semillas recubiertas deberá expresarse como sigue:
- Tras el nombre de la especie, deben introducirse claramente en el espacio proporcionado los términos "semillas en pellets", "semillas incrustadas", "semillas en gránulos", "semillas en cintas" o "semillas en matas", según sea el caso.
- El porcentaje de pellets o semillas en cintas con plántulas normales, anormales y sin plántulas.
- La duración de la prueba.

También debe señalarse en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* la siguiente información adicional:
- El método utilizado para el ensayo de germinación;
- Para las semillas en cintas o matas: el número de plántulas normales por metro de cinta o metro cuadrado de mata.

Las plántulas que, obviamente, no son de la especie indicada por el solicitante, aunque por lo demás normal, no deben incluirse en el resultado de la germinación, pero su número debe ser reportado por separado.

1.5.2.8 Ensayo de tetrazolio

El resultado de un ensayo de tetrazolio debe indicarse bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*" de la siguiente manera:
- Debe ser introducida la declaración "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables".
- En los casos en que el procedimiento de ensayo se desvíe de la estipulada en la Tabla 6A, también se debe indicar cualquier procedimiento de desviación.
  Las únicas variaciones permitidas de los procedimientos dados en la Tabla 6A son por el tiempo de premojadura, la concentración de tetrazolio, la temperatura o el tiempo de tinción. En 6.5 se dan prescripciones precisas sobre la limitación de las variaciones.
- El resultado debe ser notificado de acuerdo con 1.5.2.6 y 5.9 si las semillas individuales se ponen a ensayo al final de la prueba de germinación.

Además, debe ser indicado en el caso de especies de *Fabaceae*, uno de los siguientes, y sólo uno:

o bien (en los casos en que no se haya determinado el porcentaje de viabilidad de la semilla dura) "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables, ... % de semillas duras han sido encontradas en el ensayo".

o (en los casos en que se determine el porcentaje de viabilidad de semillas duras) "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables, ... % de semillas duras incluidas en el porcentaje de semilla viable".

A discreción del laboratorio de análisis de semillas, más información se puede indicar, por ejemplo el porcentaje de semillas que estaban vacías, con larvas, rotas o deterioradas.

1.5.2.9 Ensayo de tetrazolio en semillas recubiertas

El resultado de un ensayo de tetrazolio en semillas recubiertas deberá expresarse como sigue:
- Tras el nombre de la especie, deben estar claramente introducidas las palabras "semillas en pellets", "semillas incrustadas", "semillas en gránulos", "semillas en cintas" o "semillas en matas", según el caso.

Debe ser comunicada bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* la siguiente información adicional:
- La declaración Número de semillas (de las especies indicadas por el solicitante) incluidas en 100 semillas peletizadas" (o "semillas incrustadas" o "gránulos de semillas");
- O la declaración "Número de semillas (de las especies indicadas por el solicitante) incluidas en 1 metro de semillas en cinta";
- O la declaración Número de semillas (de las especies indicadas por el solicitante) incluidas en 1 mata de semillas o en 1 metro cuadrado de semillas en matas".
- Se debe introducir la declaración "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables".
- También se debe indicar cualquier procedimiento de desviación en los casos en que el procedimiento de ensayo se desvíe de lo estipulado en la Tabla 6A. Las únicas áreas donde están permitidas las variaciones de los procedimientos dados en la Tabla 6A, están en el área del tiempo de premojadura, concentración de tetrazolio, temperatura y tiempo de tinción. Para una orientación precisa sobre la limitación de las variaciones permitidas, véase 6.5.
- El resultado debe ser notificado de acuerdo con 5.9 si las semillas individuales se ponen a ensayo al final de la prueba de germinación.

Además, debe ser indicado en el caso de especies de *Fabaceae*, uno de los siguientes, y sólo uno:

o bien (en los casos en que no se haya determinado el porcentaje de viabilidad de la semilla dura) "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables, ... % de semillas duras han sido encontradas en el ensayo".

o (en los casos en que se determine el porcentaje de viabilidad de semillas duras) "Ensayo de tetrazolio: …% de las semilla estaban viables, ... % de semillas duras incluidas en el porcentaje de semilla viable".

1.5.2.10 Ensayo de salud de las semillas

Los resultados de un ensayo para la salud de las semillas deberán notificarse en la "Otras determinaciones" *(Other determinations)* de la siguiente manera:
- o bien resultados cualitativos o cuantitativos, como se especifica en los métodos individuales;
- resultados negativos y positivos, como se especifica en los métodos individuales;
- el nombre científico del patógeno detectado;
- el porcentaje de semillas infectadas;
- el método utilizado, incluyendo cualquier tratamiento previo (7.2.2);
- el tamaño de la muestra o fracción examinada;
- cualquier procedimiento adicional permitido utilizado.

La ausencia de una declaración sobre el estado de salud de la semilla no implica necesariamente que el estado de salud es satisfactorio.

1.5.2.11 Ensayo de especies y variedades

Los resultados de los ensayos de especies y variedades deberán notificarse en la "Otras determinaciones" *(Other determinations)* y, además, se debe dar la siguiente información:
a) la solicitud del solicitante;
b) el rasgo (s) y el método (s) utilizado;
c) el tipo de preparación de la muestra de trabajo (por ejemplo toda la muestra de trabajo con exclusión de la materia inerte o sólo la fracción de semilla pura, lavada);
d) si se utilizó una auténtica muestra estándar o una referencia estándar; si se ha utilizado una referencia estándar, se debe indicar su origen;
e) el número de semillas, plántulas o plantas examinadas.

Deberá indicarse la masa de semilla sembrada cuando es difícil determinar el número total de plantas examinadas en las parcelas de campo.

1.5.2.11.1 Resultados del examen de semillas o plántulas individuales

Dependiendo del resultado las frases sugeridas para la indicación de informes sobre semillas o plántulas divergentes, son las siguientes:
a) si no se encontró ninguna: "El ensayo realizado reveló nada que indique que la especie (y/o variedad) indicada por el solicitante esta incorrecta".
b) si se encontraron semillas no conformes: "Sobre...de semillas examinadas, ... de las semillas no están conformes a la muestra estándar auténtica de la especie (y/o variedad) indicada por el solicitante".
c) si se encontraron plántulas no conformes: "Sobre ... de semillas que han producido plántulas normales el % no está conforme a la muestra estándar auténtica de la especie (y/o variedad) indicada por el solicitante".
d) si se encontró que la muestra de trabajo en su totalidad era de una especie y/o variedad distinta a la especificada por el solicitante: "El muestreo no está conforme a la muestra estándar auténtica de la especie (y/o variedad) indicada por el solicitante".

1.5.2.11.2 Resultados de un examen de parcelas de campo

Siempre que sea posible, el resultado de un examen de parcelas de campo debe indicarse como porcentaje de cada otra aberrante especie o variedad encontrada. Cuando la expresión del resultado como porcentaje no es posible, se pueden indicar las observaciones pertinentes con respecto a la conformidad de la muestra.

Si no se encontró nada digno de un comentario especial, se sugiere la siguiente declaración: "Los resultados de un examen de parcelas de campo de esta muestra revelaron nada que indique que la especie (y/o variedad) indicada por el remitente esta (están) incorrecta".

1.5.2.11.3 Indicación de las probabilidades de satisfacer lo presupuesto

El resultado puede ser reportado como: "Sobre la base de las características analizadas, el lote de semillas satisface con un ...% las características mínimas de pureza de la especie (o variedad) con un ...% de confianza".

1.5.2.12 Contenido de humedad

Esta regla se aplica tanto al método del horno (9.1.7) como al método medidor de humedad (9.2.2.7).

El resultado de un ensayo de contenido de humedad debe ser indicado en el espacio correspondiente al 0,1 % más cercano.

También debe señalarse la siguiente información adicional, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*:
- Por el método del horno (9.1.7), deberá indicarse el método (por ejemplo la duración y la temperatura).
- Por el método medidor de humedad (9.2.2.7), se debe introducir la declaración: "Ha sido utilizado un medidor de humedad".
- Si en la muestra estaban presentes semillas en germinación, se debe introducir la siguiente declaración: "Se han encontrado semillas en germinación en la muestra de humedad remitida".
- Si en la muestra estaban presentes semillas mohosas, se debe introducir la siguiente declaración: "Se han encontrado semillas mohadas en la muestra de humedad remitida".

– En el caso de semillas pelletizadas (véase el Capítulo 11), se debe introducir la siguiente declaración: "Las semillas de la muestra de humedad remitida estaban peletizadas y el contenido de humedad reportado es el promedio de semillas y materiales de revestimiento".

1.5.2.13 Determinación del peso

El resultado de un ensayo de determinación del peso debe ser comunicado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* al número de decimales utilizados en la determinación (10.5.3).

El método utilizado ("Se ha contado toda la muestra de trabajo" o "Se han contado las réplicas") y el resultado, calculado de acuerdo a 10.6, deben ser indicados bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*.

1.5.2.14 Embriones escindidos

El resultado de un ensayo de embriones escindidos debe ser indicado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* de la siguiente forma: "Ensayo de los embriones escindidos: ...% de las semillas tenían embriones viables".

Más datos pueden ser indicados a discreción del laboratorio de análisis de semillas, por ejemplo los porcentajes de semillas que estaban vacías, dañadas por insectos o físicamente dañadas.

1.5.2.15 Ensayo de las réplicas pesadas

El resultado de un ensayo de réplicas pesadas debe ser reportado en el espacio correspondiente de la siguiente manera:
– El resultado del ensayo de pureza (si se solicita), en los espacios previstos para los ensayos de pureza;
– "N" debe introducirse en todos los espacios previstos para indicar los porcentajes de los componentes de los ensayos de germinación.

También debe indicarse la siguiente información adicional, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*:
– Peso promedio de cuatro réplicas;
– Número medio de plántulas normales en cuatro réplicas;
– Número de plántulas normales por kilogramo;
– Otras informaciones, como se especifica en 1.5.2.6 y 5.9.

A petición pueden ser indicadas otras semillas si presentes en las réplicas pesadas, dando el nombre(s) científico y el número(s) de semillas encontradas.

1.5.2.16 Ensayo de rayos X

Los resultados de un ensayo de rayos X deberán notificarse bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* como porcentajes de semillas llenas y vacías, dañadas por insectos o físicamente dañadas, de la siguiente manera:
"Resultados de los ensayos de rayos X:
… % llenas
… % vacías
… % dañadas por insectos
… % físicamente dañadas".

1.5.2.17 Ensayo del vigor de las semillas

1.5.2.17.1 Ensayo de conductividad

El resultado de un ensayo de vigor de las semillas utilizando el método de ensayo de conductividad debe ser indicado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente forma:
– El resultado debe ser expresado en microsiemens $\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$ con una precisión de 0,1 $\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$.
– Debe ser indicado el contenido de humedad de la semilla antes del ensayo. Cuando se ha ajustado el contenido de humedad antes del ensayo, deben ser indicados tanto el contenido de humedad inicial que el contenido de humedad calculado después del ajuste.
– Los resultados deben ser acompañados de una declaración de las variables específicas utilizadas en el ensayo (temperatura y tiempo de remojo).

1.5.2.17.2 Ensayo de envejecimiento acelerado

El resultado de un ensayo de vigor de las semillas utilizando el método de envejecimiento acelerado (AA) debe ser indicado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente forma:
– Los resultados se expresan como un porcentaje, calculado respecto al número entero más próximo (5.8.1) de plántulas normales, plántulas anormales, semillas duras, semillas frescas y semillas muertas. Se debe reportar como "0" si se determina que el resultado de cualquiera de estas categorías es cero.
– Debe ser reportado el contenido de humedad de la semilla antes de la prueba. Cuando se ha ajustado el contenido de humedad antes del ensayo, deben ser indicados tanto el contenido de humedad inicial que el contenido de humedad calculado después del ajuste.
– Los resultados deben ser acompañados de una declaración de las variables específicas utilizadas en el ensayo (peso de semillas por caja de AA, tanto antes como después del envejecimiento, el tiempo de envejecimiento y la temperatura).

1.5.2.17.3 Ensayo de deterioro controlado

El resultado de un ensayo de vigor de las semillas utilizando el método de ensayo de deterioro controlado, debe ser reportado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente forma:

– Los resultados se expresan como un porcentaje, calculado respecto al número más cercano conjunto (5.8.1), de la germinación total (plántulas normales más anormales) y la germinación normal. Si se determina que el resultado de cualquiera de estos es cero, debe ser reportado como "0".
– Los resultados deben ser acompañados de una declaración de las variables específicas utilizadas en la prueba (contenido elevado de humedad de la semilla, período de deterioro y temperatura).

1.5.2.17.4 Ensayo de emergencia de la radícula

El resultado de un ensayo de vigor de las semillas mediante el ensayo de emergencia de la radícula debe ser reportado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

– Los resultados se expresan como porcentaje de semillas con las radículas surgidas, calculadas al número entero más próximo (5.8.1). Si se encuentra que el resultado sea nulo, se debe introducir como "0".
– Los resultados deben ser acompañados de una declaración de la temperatura utilizada para el ensayo y el tiempo de los recuentos de emergencia de la radícula en horas, por ejemplo "Ensayo de emergencia al 90 % de las radículas, con radículas emergidas después de 66 horas a 20 °C".

1.5.2.18 Tamaño y clasificación de las semillas

El resultado de un ensayo de análisis de detección del tamaño y clasificación de las semillas debe ser comunicado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* como el promedio de dos análisis de detección situado dentro de los límites de tolerancia permitidos.

1.5.2.19 Ensayo del promedio ponderado para lotes de semillas transportados a granel en contenedores

El resultado de un ensayo del promedio ponderado llevado a cabo en lotes de semillas, tal como se describe en el Capítulo 17, debe ser indicado de la forma normal, excepto que:

a) Tras la fecha de la muestra, la fecha de recepción de la muestra, la fecha de conclusión de la prueba y las casillas con los números del ensayo, inserte la declaración: "Perdida de semilla en contenedor(s) a granel - véase bajo Otras determinaciones".
b) En "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, enumere el número de ensayo, la fecha del muestreo y la fecha de conclusión del ensayo de todos los lotes que lo constituyen, junto con la declaración: "Los resultados del ensayo representan la media ponderada de los resultados indicados en estos certificados y no estaban significativamente diferentes entre sí".

1.5.2.20 Mezclas de semillas

Los resultados de los ensayos sobre las mezclas de semillas sólo pueden ser indicados en un Certificado Internacional Azul de Muestra de Semillas (véase 1.2.2).

Debe ser indicado, para las especies ensayadas, "Mezcla de semillas".

Debe ser indicado el peso real de las semillas examinadas, al número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, por ejemplo "Ensayo de mezcla de semillas ... g de semillas examinadas".

1.5.2.20.1 Pureza

El porcentaje en peso de semillas puras, materia inerte y otras semillas se debe dar a un decimal. En el caso de una mezcla de semillas, el porcentaje de semilla pura debe ser calculado utilizando el peso total de la semilla pura de todas las especies que la componen. El porcentaje en peso de la semilla pura de cada especie componente, debe ser incluido en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*. Si el porcentaje en peso está por debajo de 0,05 %, hay que señalarlo como "*TR*". Si no se encuentra ninguna materia inerte o otras semillas, esto se debe indicar como "0.0". Se debe utilizar el nombre científico para todas las especies de otras especies que se encuentran en el ensayo de pureza.

1.5.2.20.2 Determinación de otras semillas por número

Los resultados de la determinación de otras semillas por número, en una mezcla de semillas, deben ser indicados como en 4.7.

1.5.2.20.3 Germinación

Los resultados de la germinación de cada particular especie deben ser indicados bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*. Los resultados de falta de germinación se indican en la sección "Germinación" del certificado y se debe introducir un signo menos o un guión (–). Los resultados del ensayo de germinación para cada componente ensayado, se reportan al número entero más próximo en las categorías plántulas normales, semilla dura, semilla fresca, plántulas anormales y semillas muertas. Cuando se

ensayan 400, 200 o 100 semillas, los resultados se indican como porcentaje y también se indica el número de semillas ensayadas. Las tolerancias, como se describe en 5.8.1, se aplican a las pruebas de 400, 200 y 100 semillas.

Cuando se ensayan menos de 100 semillas, se indica el número real de semillas en cada categoría, junto con el número total de semillas ensayadas.

En el certificado debe ser reportado el método utilizado para la germinación de todas las especies que componen el ensayo.

1.5.2.20.4 Ensayo de tetrazolio

Los resultados del ensayo tetrazolio para cada especie de componentes se presentan bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*. Los resultados se indican como porcentaje y también se indica el número de semillas ensayadas.

Cuando se prueban menos de 100 semillas, se indica el número de semillas viables junto con el número total de semillas ensayadas.

1.5.2.20.5 Determinación del peso

El método utilizado ("Se ha contado el número de semillas de cada componente en la fracción de semilla pura del ensayo de pureza") y el resultado deberá comunicarse calculado de acuerdo con 18.8.1, bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*.

1.5.2.21 Organismos genéticamente modificados

El resultado de un ensayo de organismos genéticamente modificados debe señalarse bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* de la siguiente manera:

- la petición del solicitante;
- el nombre y el alcance (con referencia al objetivo) del método (s) utilizado;
- una descripción de la muestra de trabajo (por ejemplo la fracción de semillas puras, la materia inerte presente, otras semillas presentes, semilla lavada);
- el número de semillas en la muestra de trabajo;
- una descripción y la fuente del material de referencia utilizado (por ejemplo el material de referencia certificado, el proveedor);
- el límite de detección del método (al probar grupos de semillas o semillas en granel);
- el límite de cuantificación del método (cuando se prueban semillas en granel con un método cuantitativo).

1.5.2.21.1 Resultados de las pruebas cualitativas

Las frases sugeridas para indicar la detección de objetivos del ensayo dependiendo del resultado, son las siguientes:

a) Si el objetivo (s) del ensayo no se ha (n) detectado: "No se ha detectado el objetivo del ensayo".
b) Si el objetivo (s) del ensayo se ha (n) detectado: "Se ha detectado el objetivo del ensayo".

1.5.2.21.2 Resultados cuantitativos obtenidos por ensayos múltiples cualitativos de individuos o grupos de semillas o plántulas

Los resultados deben expresarse en relación con el porcentaje de semillas o plántulas que actúan el objetivo del ensayo especificado por el solicitante. Deben ser indicados el número total de semillas ensayadas, el número de grupos y el número de semillas por grupo. Las frases sugeridas para indicar tales resultados, dependiendo del resultado, son las siguientes:

a) Si no se ha (n) detectado el objetivo (s) de ensayo: "No se ha(n) detectado el (los) objetivo(s) del ensayo".
b) Si se ha (n) detectado el objetivo (s) del ensayo: "El % de semillas en el lote objetivo(s) del ensayo ha sido determinado ser ...%, con un intervalo de confianza del 95 % de [...% ...%]".

o

Para el (los) objetivo(s) del ensayo, indicado(s) por el solicitante, el lote de semillas cumple la especificación del ...% (máximo o mínimo) con la confianza del...%".

Si los resultados no muestran evidencia de que el lote de semillas cumpla una especificación dada con cierta confianza, entonces el solicitante indicará la estimación puntual con el intervalo de confianza del 95 %.

1.5.2.21.3 Las mediciones cuantitativas de OGM en muestras a granel

Los resultados deben expresarse en relación con el porcentaje del objetivo del ensayo, especificado por el solicitante, en masa o en número de copias de ADN. Debe ser indicado el plan del ensayo (por ejemplo el número de réplicas de las muestras de semillas, el número de réplicas de muestras por muestra de semilla, número de extractos por muestra de harina, número de mediciones repetidas por extracto).

Las frases necesarias para la indicación de informes en función de los resultados son las siguientes:

a) Si no se ha detectado el objetivo del ensayo (no hay señal o está por debajo del límite de detección): "El objetivo del ensayo no fue detectado a un nivel por encima del límite de detección".
b) Si se ha detectado el objetivo del ensayo a un nivel por encima del límite de detección y por debajo del límite de cuantificación: "Se detectó el objetivo del ensayo a

un nivel por debajo del límite de cuantificación del método utilizado".

c) Si se han encontrado semillas que muestran el objetivo del ensayo a un nivel por encima del límite de cuantificación: "El porcentaje del objetivo del ensayo(s) en el lote de semillas ha sido determinado ser del ...% en masa o número de copias, con un intervalo de confianza del 95 % de [...%, ...%]".

o

"Para el (los) objetivo(s) de la prueba indicados por el solicitante, el lote de semillas cumple la especificación del ...% (máximo o mínimo) de la masa o del número de copias con confianza del ...%".

Si los resultados no muestran evidencia de que el lote de semillas cumpla una especificación dada con cierta confianza, entonces el solicitante indicará la estimación puntual con el intervalo de confianza del 95 %.

1.5.2.22 Información de resultados de ensayos no cubiertos por las Reglas

Los resultados deben ser indicados bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*. Deberá indicarse el método de ensayo y seguido de: "(Este método no está cubierto por las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas)".

1.5.3 Información de la incertidumbre de medida en los certificados de la ISTA

Las incertidumbres de las medidas asociadas a resultados de prueba son accesibles a través de las tablas de tolerancias en las Reglas ISTA y no están indicados en los Certificados ISTA.

1.5.4 Declaración que se refiere al cumplimiento de los requisitos normativos

Además de los resultados de los ensayos realizados, se permite hacer, bajo el propio riesgo del laboratorio que emite el certificado, una declaración de que el lote de semillas ensayado cumple determinadas normas legislativas. ISTA asume ninguna responsabilidad por tales declaraciones.

1.6 Validez de un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas

Un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas sigue siendo válido, siempre y cuando no sea sustituido por otro Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas.

No más de un Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas es válido para un determinado lote o fracción del lote, en un dado momento, para un particular ensayo.

Un nuevo Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas puede ser emitido para un mismo lote o fracción del lote de semillas, siempre que sea recogida y analizada una nueva muestra remitida de esta fracción del lote. El nuevo certificado sólo es válido para ese lote determinado o para su fracción del cual se tomaron nuevas muestras. Si se vuelve a muestrear una nueva fracción, esta se convierte en un nuevo lote de semillas y debe ser identificado por un identificador de un nuevo lote de semillas. Puede ser emitido un nuevo original Certificado Internacional Naranja de un Lote de Semillas para el mismo lote de semillas, siempre que sea tomada y sea analizada una nueva muestra remitida para este lote.

Todo certificado anterior se cancela y se sustituye por cualquier certificado emitido por el mismo lote o fracción del lote de semillas bajo la misma referencia, es decir el lote de semillas sellado y su identificación, para el (s) mismo (s) particular (s) ensayo(s).

Las fechas de referencia son (en orden de prioridad) la fecha de muestreo, la fecha de finalización del análisis y la fecha de publicación del Certificado.

1.7 Resultados disputados

Si los resultados indicados en un Certificado ISTA son contradichos por los resultados de ensayos subsiguientes obtenidos por otro laboratorio acreditado y el problema no se puede resolver fácilmente, el laboratorio que ha emitido el Certificado debe ponerse en contacto con la Secretaría ISTA que establecerá el camino correcto.

Capítulo 2: Muestreo

2.1 Objeto

El objeto de un muestreo es obtener una muestra de un tamaño adecuado para las análisis, en la cual la probabilidad de que un elemento esté presente, se determina sólo por su nivel de ocurrencia en el lote de semillas.

2.2 Definiciones

2.2.1 Lote de semillas

Un lote de semillas es una determinada cantidad de semilla que sea física y únicamente identificable.

2.2.2 Muestra primaria

Una muestra primaria es una parte tomada del lote de semillas durante una misma acción de muestreo simple.

2.2.3 Muestra compuesta

La muestra compuesta se forma combinando y mezclando todas las muestras primarias tomadas del lote de semillas.

2.2.4 Submuestra

Una submuestra es una porción de una muestra obtenida mediante la reducción de una muestra.

2.2.5 Muestra remitida

Una muestra remitida es una muestra que va a ser enviada al laboratorio de análisis y puede comprender bien la totalidad de la muestra compuesta o una submuestra de la misma. La muestra remitida puede dividirse en submuestras envasadas en diferentes materiales y preparadas para análisis específicas (por ejemplo de humedad o de salud).

2.2.6 Muestra duplicada

Una muestra duplicada es otra muestra obtenida para remisión de la misma muestra compuesta y la mención “Muestra duplicada).

2.2.7 Muestra de trabajo

La muestra de trabajo es el conjunto de la muestra remitida o de una submuestra de la misma, en la que está hecho uno de los análisis de calidad descritos en estas Reglas ISTA y debe tener al menos el peso prescrito por las Reglas ISTA para el determinado análisis.

2.2.8 Sellado

Sellado significa que un contenedor en el que la semilla está contenida, se cierra de tal manera que no se puede abrir para ganar acceso a la semilla y cerrar de nuevo, ya sea sin destruir el sello o dejar evidencia de manipulación. Esta definición se refiere al sellado de lotes de semillas, así como a muestras de semillas.

2.2.9 Recipientes auto-sellados

La bolsa de “valve-pack) es un tipo específico de recipiente de auto sellado. Se llena a través de una válvula en forma de manguito que se cierra automáticamente luego del llenado de la bolsa.

2.2.10 Marcado/etiquetado

Un recipiente de un lote de semillas puede ser considerado como marcado o etiquetado cuando hay una marca de identificación única en el envase, que define el lote de semillas a la que pertenece el recipiente. Todos los contenedores de un lote de semillas deben estar marcados con la misma designación única del lote de semillas (números, caracteres o combinación de ambos). El marcado de las muestras y submuestras debe asegurar de que siempre hay un vínculo inequívoco entre el lote de semillas y las muestras y submuestras.

2.2.11 Tratamiento de semillas

“El tratamiento de semillas) es un término genérico que indica que un lote de semillas ha sido objeto de:

a) la aplicación de un compuesto que incluye productos químicos, nutrientes u hormonas;
b) la aplicación de un producto biológico, microorganismos incluidos;
c) un proceso que incluye mojadura y secado;
d) una forma de energía, como el calor, la radiación, la electricidad o el magnetismo;

pero no especifica el método de aplicación.

El tratamiento de semillas no cambia significativamente el tamaño, forma o añade peso a las semillas del lote.

2.2.12 Semillas en pellets

Semillas en pellets son semillas cubiertas con material que pueda contener pesticidas, fungicidas, colorantes u otros aditivos. Se definen los siguientes tipos de semillas recubiertas:

Bolitas de semillas. Más o menos unidades esféricas, que incorporan normalmente una sola semilla con su tamaño y forma ya no fácilmente evidente.

Semillas incrustadas. Unidades que más o menos mantienen la forma de la semilla, con el tamaño y el peso cambiado en un grado medible.

Semillas en gránulos. Unidades más o menos cilíndricas, incluyendo tipos con más de una semilla por gránulo.

Semillas en cintas. Estrechas bandas de material, como papel u otro material degradable, con semillas espaciadas al azar, en grupos o en una sola fila.

Semillas en matas. Hojas amplias de material, como papel u otro material degradable, con semillas colocadas en filas, grupos o al azar a través de las hojas.

2.3 Principios generales

Una muestra compuesta se obtiene a partir del lote de semillas tomando muestras primarias de diferentes posiciones en todo el lote de semillas y mezclándolas. A partir de esta muestra compuesta, se obtienen submuestras por procedimientos de reducción de la muestra en una o más etapas que forman la muestra remitida y, finalmente, las muestras de trabajo para los análisis. Para la emisión de Certificados ISTA, requisitos específicos deben cumplirse según se indica en 2.5.4. Más información sobre el muestreo de las semillas se puede encontrar en el actual Manual de la ISTA *Handbook on Seed Sampling*.

2.4 Aparatos

El muestreo y la reducción de la muestra deben realizarse mediante técnicas y equipo apropiado que esté limpio y en buenas condiciones, como se describe en 2.5.1 y 2.5.2.2.

Los contenedores utilizados para recoger muestras primarias, muestras compuestas y durante la mezcla y la división debe estar libre de estática para evitar paja o pequeñas semillas que se adhieren a la parte interior de los contenedores.

2.5 Procedimientos

2.5.1 Procedimientos para muestrear un lote de semilla

2.5.1.1 Preparación de un lote de semillas y las condiciones para el muestreo

En el momento del muestreo, el lote de semillas debe ser lo más uniforme posible. Si se encuentra el lote de semillas que es, evidentemente, heterogéneo, la toma de muestras debe denegarse o detenerse. En caso de duda la heterogeneidad se puede determinar como se describe en 2.9.

Se pueden tomar muestras de semilla en contenedores o cuando la misma entra en contenedores. Los contenedores deben ser adecuados a los objetivos, es decir, no deben dañar la semilla y deben estar limpios para evitar mezclas. Los envases deben estar etiquetados o marcados antes o justo después de terminar el muestreo.

El lote de semillas debe estar dispuesto de modo que cada parte del lote de semillas sea de fácil acceso.

2.5.1.2 Intensidad del muestreo

Para lotes de semillas en contenedores de 15 kg a 100 kg de capacidad (incluido), de acuerdo con la Tabla 2.1 la intensidad del muestreo debe ser considerada como el requisito mínimo.

Para lotes de semillas en contenedores de menos de 15 kg de capacidad, los recipientes deben combinarse en unidades de muestreo que no excedan los 100 kg, por ejemplo 20 contenedores de 5 kg, 33 envases de 3 kg o 100 envases de 1 kg. Para semillas en matas y cintas, se pueden mezclar pequeños paquetes o carretes para unidades de muestreo no superiores a 2 000 000 semillas. Las unidades de muestreo deben considerarse contenedores, como se describe en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Intensidad de muestreo mínima de lotes de semillas en contenedores de 15 kg a 100 kg de capacidad (incluido)

Número de contenedores	Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse
1–4	3 muestras primarias de cada contenedor
5–8	2 muestras primarias de cada contenedor
9–15	1 muestras primarias de cada contenedor
16–30	15 muestras primarias de lotes de semillas
31–59	20 muestras primarias de lotes de semillas
60 o más	30 muestras primarias de lotes de semillas

Cuando se hace un muestreo de semillas en recipientes de más de 100 kg o de corrientes de semillas que entran en contenedores, la intensidad de muestreo debe ser considerada, de acuerdo con la Tabla 2.2, como el requisito mínimo.

Tabla 2.2. Intensidad de muestreo mínima de lotes de semillas en recipientes de más de 100 kg o de corrientes de semillas que entran en contenedores

Tamaño del lote de semillas	Número de muestras elementales que deben tomarse
Hasta 500 kg	Al menos cinco muestras primarias
501–3 000 kg	Una muestra primaria por cada 300 kg, pero no menos de cinco
3 001–20 000 kg	Una muestra primaria por cada 500 kg, pero no menos de 10
20 001 kg y más	Una muestra primaria por cada 700 kg, pero no inferior a 40

Cuando se muestrea un lote de semillas de hasta 15 contenedores, debe ser tomado el mismo número de muestras primarias de cada contenedor, sin tener en cuenta su tamaño.

La intensidad de muestreo para las semillas peletizadas es como se describe en las Tablas 2.1 y 2.2.

2.5.1.3 Toma de muestras primarias

Al definir el número y/o el tamaño de las muestras primarias, la toma de muestras de semillas debe garantizar (además de cumplir con la intensidad mínima de muestreo) que se envíe al laboratorio la cantidad mínima de semillas requerida para la prueba (s) solicitada de análisis y que quede disponible suficiente semilla para la obtención de duplicados de las muestras si necesario.

Las muestras primarias de tamaño aproximadamente igual, deben ser tomadas de un lote de semillas independientemente del lugar, en el lote o en el recipiente, de la toma de la muestra primaria.

Cuando el lote de semillas es en contenedores, los mismos para ser incluidos en la muestra deben ser seleccionados, de forma aleatoria o de acuerdo con un plan sistemático, en todo el lote de semillas. Muestras primarias deben extraerse de la parte superior, media e inferior de los contenedores, pero no necesariamente de más de una posición en cualquier contenedor, a menos que así se especifique en las Tablas 2.1 y 2.2.

Cuando la semilla es a granel o en grandes contenedores, las muestras primarias deben extraerse de posiciones aleatorias.

Los contenedores deben ser abiertos o perforados para la extracción de muestras primarias. Los contenedores muestreados deben entonces ser cerrados o los contenidos transferidos a nuevos contenedores.

Cuando la semilla debe ser envasada en recipientes especiales (por ejemplo recipientes pequeños, no penetrables, o a prueba de humedad), se deben tomar muestras, si es posible, ya sea antes o durante el llenado de los contenedores.

El muestreo de lotes de semillas en cintas y semillas en matas, se debe hacer tomando bultos o trozos de cinta o matas.

Los instrumentos que se utilizan no deben dañar la semilla ni seleccionar conforme al tamaño de la semilla, forma, densidad, brozosidad o cualquier otro rasgo de calidad. Todos los aparatos de muestreo deben estar limpios antes de su uso para evitar contaminaciones cruzadas. Las sondas deben ser suficientemente largas para que la abertura en la punta alcance al menos la mitad del diámetro del contenedor. Cuando el recipiente no es accesible desde lados opuestos, la sonda debe ser lo suficientemente larga para alcanzar el lado opuesto. El muestreo de lotes de semillas puede ser realizado por uno de los métodos enumerados a continuación.

a) **Muestreo automático de una corriente de semilla.** La semilla puede ser muestreada por los aparatos del muestreo automático, a condición de que el instrumento muestre uniformemente la sección transversal de la corriente de la semilla y el material que entra en el instrumento no rebote de nuevo. Puede ser operado ya sea manual o bajo control automático. Los intervalos entre la toma de muestras primarias deben ser constantes, pero también pueden variar de forma aleatoria.
b) **Muestreo manual de un flujo de semillas.** Flujos de semillas también pueden ser muestreadas mediante el uso de instrumentos manuales cuando cumpla los requisitos enumerados en a).
c) **Palo de muestreo.** El palo de muestreo (por ejemplo sonda palo, sonda tipo manga, sonda espiral) se compone de dos partes, una de las cuales queda suelta dentro de la otra, pero lo suficientemente ajustadas para que las semillas o impurezas no se deslicen entre ellas. La parte exterior tiene un extremo puntiagudo sólido. Ambas partes tienen ranuras en sus paredes para que la cavidad de la parte interior pueda ser abierta y cerrada moviendo las dos partes una contra la otra por una torsión o un movimiento de tirar-empujar.
El palo de muestreo se puede utilizar en posición horizontal, diagonal o vertical. La sonda espiral tiene ranuras con una disposición en espiral para su posterior apertura desde la punta hasta el mango y sólo puede utilizarse para las semillas de un tamaño más pequeño que *Triticum aestivum*.
Sin embargo, cuando se utiliza verticalmente o diagonalmente hacia abajo, el palo de muestreo debe o bien tener tabiques que dividen el instrumento en un número de compartimentos o tener ranuras con disposición espiral. El diámetro interior mínimo debe ser de 25 mm para todas las especies.
Cuando se usa el palo de muestreo, insértelo en el contenedor en la posición cerrada, empujando suavemente para que la punta llegue a la posición deseada, abra el palo de muestreo, agite ligeramente para permitir que se llene completamente, suavemente cierre y retire y vacíe la muestra primaria en un recipiente. Se debe tener cuidado en el cierre del palo de muestras para que las semillas no se dañen.

d) **Sonda de Nobbe.** La sonda de Nobbe (sonda dinámica) es un tubo que lleva una punta con una abertura cerca de la misma. La semilla pasa a través del tubo y se recoge en un recipiente. El diámetro interior mínimo de la sonda de Nobbe debe ser de 10 mm para los tréboles y semillas similares, de unos 14 mm para los cereales y unos 20 mm para el maíz.
Cuando se utiliza la sonda de Nobbe, insértela con un ángulo de aproximadamente 30° con el plano horizontal y con la abertura hacia abajo, empujando la sonda hasta que alcanza la posición requerida y girar de 180°. Retirarla del recipiente con velocidad decreciente, agitando suavemente la sonda para ayudar a mantener un flujo uniforme de la semilla y recoger la muestra de semillas procedentes de la sonda en un contenedor adecuado.

e) **Muestreador de granel.** El muestreador de carga (muestreador de granel) consiste en un tipo especial de cámara que está fijado a un eje. La parte inferior de la cámara en forma de cono está en un extremo a punta. Para alcanzar una mayor profundidad, el eje puede alargarse atornillando en sucesivas extensiones. Hay un sistema de cierre en la cámara que puede ser un collar en el exterior del instrumento, un ala conectada a una puerta o una válvula con un resorte. Algunos muestreadores de carga se pueden cerrar antes que sean posicionados hacia atrás desde la posición de muestreo; otros no pueden ser cerrados, de modo que la cámara llena está abierta durante el retiro. Para todas las especies, el diámetro mínimo interior puede ser de unos 35 mm y la profundidad de 75 mm. Cuando se utiliza el muestreador de carga, insertelo en el contenedor en posición cerrada, empuje suave y verticalmente en las semillas para que la punta llegue a la posición deseada, tire atrás unos 10 cm el muestreador de carga o darle vuelta (en función del sistema de cierre), agitar ligeramente para permitir que se llene completamente, si es posible cierre suavemente y retire y vacíe la muestra primaria en un recipiente. Se debe tener cuidado en el cierre del muestreador de carga, de manera que las semillas no estén dañadas.

f) **Muestreo a mano.** Este método se puede utilizar para todas las especies y puede ser el método más adecuado para las semillas que pueden ser dañadas por el uso de sondas, semillas con alas, semillas con bajo contenido de humedad, semillas en cintas y semillas en matas.
Para el muestreo a mano de las semillas en contenedores, deben ser accesibles todas las posiciones dentro de los contenedores. Los contenedores con capas que no son accesibles desde la apertura normal, pueden ser cortados y abiertos, muestreados y re-envasados. Los contenedores también pueden ser vaciados parcial o completamente durante el proceso de muestreo para obtener acceso a todas las posiciones en los contenedores. Para el muestreo a mano, limpie la mano y gire la manga si es necesario, inserte la mano abierta en el recipiente hasta la posición requerida, cierre y retire la mano, teniendo mucho cuidado de que los dedos permanezcan herméticamente cerrados sobre las semillas por lo que ninguna pueda escapar y finalmente vaciar la mano en una sartén de recepción.

2.5.1.4 Recepción de la muestra compuesta

Siempre que sea posible, las muestras primarias se comparan entre sí durante el muestreo. Las muestras primarias pueden ser mezcladas para formar la muestra compuesta sólo si parecen ser uniformes. Si no, el procedimiento de muestreo debe ser detenido. Cuando las muestras primarias se recogen directamente en un contenedor, el contenido de este contenedor puede ser considerado como la muestra compuesta sólo si aparece uniforme. Si no, no debe ser utilizado para obtener una muestra remitida.

2.5.1.5 Obtención de la muestra remitida

La muestra remitida debe ser obtenida mediante la reducción de la muestra compuesta a un tamaño adecuado mediante uno de los métodos mencionados en 2.5.2.2. La obtención de submuestras como para las pruebas de humedad, deben llevarse a cabo de tal manera que los cambios en el contenido de humedad sean mínimos.

La muestra compuesta puede ser remitida al laboratorio de análisis de semillas si es de tamaño adecuado o si es difícil de mezclar y de reducir adecuadamente la muestra compuesta en condiciones de almacenamiento.

Muestras duplicadas, que fueron solicitadas a más tardar en el momento del muestreo, deben ser preparadas de la misma manera que la muestra remitida.

2.5.1.6 Envío de la muestra remitida

La muestra remitida debe estar marcada con la misma identificación que el lote de semillas. Para un Certificado Internacional Naranja de un lote de semillas, la muestra debe ser sellada. Se debe proporcionar la información adicional requerida de acuerdo con 1.4.2, así como el nombre de cualquier tratamiento químico aplicado.

Las muestras remitidas deberán envasarse a fin de evitar daños durante el tránsito. Las muestras remitidas deberán ser envasadas en recipientes transpirables.

Las submuestras para pruebas de humedad y las muestras de lotes de semillas que han sido secadas a bajo contenido de humedad, deben ser envasadas en recipientes a prueba de humedad que contengan tan poco aire como sea posible. Muestras remitidas para pruebas de germinación, pruebas de viabilidad y pruebas de salud sólo pueden ser envasadas en recipientes resistentes a humedad, cuyas condiciones de almacenamiento adecuadas puedan estar aseguradas.

Las muestras remitidas deberán ser enviadas al laboratorio de análisis de semillas sin demora.

2.5.1.7 Almacenamiento de muestras remitidas antes del análisis

Se debe hacer todo lo posible para empezar el análisis de una muestra remitida en el día de la recepción. El almacenamiento de semillas ortodoxas, cuando sea necesario, debe ser en un lugar fresco y bien ventilado.

Semillas no ortodoxas (es decir recalcitrantes o intermedias) deben analizarse lo antes posible después de la obtención de la muestra remitida de la muestra compuesta, sin almacenamiento. La manipulación de la muestra remitida y, si es necesario, el almacenamiento debe realizarse bajo condiciones óptimas específicas.

2.5.2 Procedimientos para la obtención de muestra remitida y de trabajo

2.5.2.1 Tamaño mínimo de la muestra de trabajo

Los tamaños mínimos de las muestras de trabajo se prescriben en los capítulos correspondientes para cada análisis. Los pesos de la muestra de trabajo para el análisis de la pureza dados en la Tabla 2A se calculan para contener al menos 2 500 semillas. Estos pesos se recomiendan para uso normal en los análisis de pureza, véase 3.5.1.

Los pesos de la muestra en la columna 5 de la Tabla 2A, Parte 1, para cargos de otras especies son 10 veces los pesos en la columna 4, sujeto a un máximo de 1.000 g.

Las muestras de trabajo de todas las semillas revestidas con excepción de las que se definen como semillas tratadas en 2.2.11 deben contener al menos el número de pellets, semillas o gránulos indicado en la columna 3 de la Tabla 2B, Parte 1 y Parte 2. Si se utiliza una muestra más pequeña, se debe reportar el número real de pellets, semillas o gránulos en la muestra.

2.5.2.2 Métodos de reducción de la muestra

Si la muestra de semillas necesita ser reducida a un tamaño igual o mayor que el tamaño prescrito, la muestra de semillas debe ser primero completamente mezclada. La muestra remitida/de trabajo debe entonces obtenerse ya sea mediante repetidas reducciones a la mitad o mediante la indefinida y, posteriormente, mezcla de pequeñas porciones aleatorias. Los aparatos y los métodos para la reducción de la muestra se describen de 2.5.2.2.1 a 2.5.2.2.4. Uno, dos o más de estos métodos se pueden utilizar en un procedimiento de reducción de la muestra. Cuando se utiliza uno de los divisores descritos para los pellets de semillas la distancia de caída no debe superar los 250 mm.

Excepto en el caso de salud de la semilla, el método manual de reducción a la mitad debe estar restringido a ciertos géneros que figuran en 2.5.2.2.4. Sólo el método de la cuchara y el método manual de reducción a la mitad pueden utilizarse en el laboratorio para obtener muestras de trabajo para los ensayos de salud de las semillas, donde otras muestras o equipos pueden estar contaminados por las esporas u otro material de propagación.

Para las cintas y los semillas en matas tome trozos de cinta o mata al azar, para proporcionar suficientes semillas para el análisis.

Después de obtener una muestra de trabajo o medio-muestra de trabajo el resto debe ser re-mezclado antes de obtener una segunda muestra de trabajo o una medio-muestra de trabajo.

Para obtener la muestra remitida para determinar el contenido de humedad (2.5.4.5 a), deben tomarse submuestras de la siguiente manera: en primer lugar, mezclar la muestra compuesta. Luego, tomar un mínimo de tres muestras de diferentes posiciones y mezclarlas para crear la submuestra de humedad del tamaño requerido. La submuestra de humedad debe tomarse tan pronto como sea posible para evitar cambios en el contenido de humedad.

Para obtener la muestra de trabajo para la determinación del contenido de humedad (9.1.5.2) se deben tomar submuestras de la siguiente manera: antes de tomar la submuestra, mezclar la muestra o agitando la muestra en su contenedor con una cuchara o mediante la colocación de la abertura del recipiente original contra la abertura de un recipiente similar y vertiendo la semilla de ida y vuelta entre los dos recipientes. Tome un mínimo de tres submuestras con una cuchara de diferentes posiciones y mézclelas para crear la submuestra del tamaño requerido. La semilla no debe ser expuesta al aire durante la reducción de la muestra por más de 30 s.

2.5.2.2.1 Métodos con divisor mecánico

Este método es adecuado para todo tipo de semillas, excepto algunas semillas muy brozosas. El aparato divide una muestra, pasada a través del mismo, en dos o más partes, aproximadamente iguales. La muestra remitida se puede mezclar haciéndola pasar a través del divisor, mezclando las partes y pasando toda la muestra a través en un segundo tiempo y, de manera similar, una tercera vez si es necesario. La muestra se reduce pasando la semilla varias veces y con la eliminación de partes en cada ocasión. Este proceso de reducción se continúa hasta que se obtiene una muestra de trabajo de aproximadamente, pero no menos que, el tamaño requerido.

Los divisores que se describen a continuación son ejemplos de equipos adecuados.

a) **Divisor cónico.** El divisor cónico (tipo Boerner) consta de una tolva, de un cono y de una serie de deflectores que dirigen la semilla en dos tubos. Los deflectores for-

man canales y espacios alternos de igual anchura. Están dispuestos en un círculo y se dirigen hacia el interior y hacia abajo: los canales conducen a un pico de vertido y los espacios a una boca opuesta. Una válvula o puerta en la base de la tolva conserva la semilla. Cuando la válvula se abre las semillas caen por gravedad sobre el cono, donde se distribuyen de manera uniforme en los canales y espacios y, finalmente, pasan a través de los picos de vertido en los moldes para semillas.

Las siguientes dimensiones son adecuadas: cerca de 38 canales, cada uno de aproximadamente 25 mm de ancho para las grandes semillas y unos 44 canales, cada uno de aproximadamente 8 mm de ancho para las pequeñas semillas a flujo libre.

b) **Divisor de suelo.** El divisor de suelo (divisor de rifle) consta de una tolva con cerca de 18 canales o conductos conectados alternativamente que conduce a lados opuestos. Un canal ancho aproximadamente 13 mm es adecuado.

En el uso del divisor, la semilla se coloca de manera uniforme en un molde de colada y luego se vierte en aproximadamente iguales partes en la tolva a lo largo de toda la longitud. La semilla pasa a través de los canales y se recoge en dos moldes de recepción.

c) **Divisor a centrífuga.** En el separador centrífugo (tipo Gamet) la semilla fluye hacia abajo a través de una tolva en una taza poco profunda o centrífuga. Tras la rotación de la centrífuga por un motor eléctrico, las semillas son expulsadas por la fuerza centrífuga y caen hacia abajo. El círculo o el área donde las semillas caen, se divide en dos partes iguales por un deflector estacionario, de manera que aproximadamente la mitad de las semillas caen en un tubo de salida y un medio en el otro surtidor. El divisor a centrífuga tiende a dar resultados variables a menos que la centrífuga opere después de haber derramado centralmente la semilla en la tolva.

d) **Divisor a rotación.** El divisor a rotación comprende una unidad de rotación de corona con adjuntos de 6 a 10 contenedores-submuestras, un aparato de vibración y una tolva. El divisor vierte la semilla en la tolva cuando el divisor a rotación está encendido, de manera que la unidad de corona con los contenedores gire con aproximadamente 100 rpm y entonces inicia la vibración para alimentar la semilla en el cilindro de entrada de la corona giratoria. La velocidad de alimentación y por lo tanto la duración de la operación de división, se puede ajustar mediante la distancia entre el embudo de la tolva y el aparato y la intensidad de la vibración de la canaleta. Hay dos principios: (i) el cilindro de entrada alimenta la semilla centralmente en un distribuidor dentro de la corona giratoria distribuyendo la semilla a todos los contenedores simultáneamente. (ii) El cilindro de entrada alimenta la semilla en manera no centralizada en las entradas de los contenedores de rotación por debajo de la entrada del cilindro, de manera que la corriente de semilla se subdivide en una gran cantidad de submuestras.

e) **Divisor variable del muestreo.** El divisor de muestra variable consiste en una tolva de alimentación y un tubo que gira debajo con aproximadamente 40 rpm. El tubo distribuye el flujo de semillas procedente de la tolva de alimentación sobre la superficie interior de una segunda tolva, que està bien montada en una tercera tolva concéntrica. En la segunda y tercera tolva hay ranuras que comprenden 50 % del perímetro de las tolvas. 50% de la semilla pasará a través de las dos tolvas en una bandeja colectora. El otro 50 % se mantendrá dentro de las tolvas para luego ir a una segunda bandeja colectora. Los dos tolvas se pueden girar una contra la otra resultando en más ranuras estrechas. El efecto es que un porcentaje menor pasará a través de las ranuras. Sea la muestra más pequeña fuera de las tolvas que la muestra más grande dentro de las tolvas, se pueden utilizar como la requerida muestra. La posición de las dos tolvas en relación entre sí, se puede ajustar con precisión, lo que resulta en tamaños de submuestra predeterminadas.

2.5.2.2.2 Método modificado de reducción a la mitad

El aparato comprende una bandeja en la que hay una cuadrícula de celdas cúbicas de igual tamaño, abiertas en la parte superior y cada una alternada con otra que no tiene parte inferior. Después de una mezcla preliminar, la semilla se vierte de manera uniforme sobre la cuadrícula. Cuando se levanta la misma, aproximadamente la mitad de la muestra permanece en la bandeja. La muestra remitida sucesivamente se reduce a la mitad de esta manera hasta que se obtiene una muestra de trabajo, de aproximadamente, pero no menor, del tamaño requerido.

2.5.2.2.3 Método de la cuchara

Se recomienda el método de la cuchara para la reducción de la muestra para la prueba de salud de la semilla (7.4.1). Para otras análisis, se limita a las especies con semillas más pequeñas que *Triticum* spp. a los géneros *Arachis, Glycine* et *Phaseolus*, y a los géneros de árboles *Abies, Cedrus* y *Pseudotsuga*. Se requieren una bandeja, una espátula y una cuchara con un borde recto. Después de una mezcla preliminar, vierta la semilla uniformemente sobre la bandeja; no agite la bandeja a partir de entonces. Con la cuchara en una mano, la espátula en la otra y el uso de ambos, tomar pequeñas porciones de semilla de no menos de cinco lugares al azar. Se toman porciones suficientes de semillas para constituir una submuestra de tamaño requerido.

2.5.2.2.4 Método manual de reducción a la mitad

Este método se limita a los siguientes géneros de semillas brozosas:

Agrimonia, Andropogon, Anthoxanthum, Arrhenatherum, Astrebla, Beckmannia, Bouteloua, Brachiaria, Briza, Cenchrus, Chloris, Dichanthium, Digitaria, Echinochloa, Ehrharta, Elymus, Eragrostis, Gomphrena, Gossypium (solamente semilla para hila), *Melinis, Oryza, Pennisetum (no glaucum), Psathyrostachys, Scabiosa, Sorghastrum, Stylosanthes (no guianensis), Trisetum*;

a los siguientes géneros de semillas frágiles que se pueden dañar fácilmente:

Arachis, Glycine y *Phaseolus;*

y para los siguientes géneros y especies de árboles y arbustos:

Acer, Aesculus, Ailanthus, Castanea, Cedrela, Corylus, Fagus, Fraxinus, Juglans, Liriodendron, Pinus cembra, Pinus pinea, Platanus, Populus, Quercus, Salix, Tectona, Ulmus.

El método manual de reducción a la mitad también se puede utilizar con las especies donde todos los otros métodos de división son extremadamente difíciles o imposibles de usar.

Para todas las demás especies, sólo se puede utilizar para obtener muestras de trabajo en el laboratorio para el análisis de salud de la semilla (7.4.1).

Para aplicar el método manual de reducción a la mitad, vierta la muestra uniformemente sobre una superficie limpia y lisa, mezcle bien la semilla en un montículo con una espátula plana y aguda, divida el montículo por la mitad y reduzca a la mitad cada medio nuevo - obtenendo cuatro porciones - y reduzca a la mitad cada porción nueva - originando ocho porciones, disponga las porciones en dos filas de cuatro, mezcle y conserve porciones suplentes: por ejemplo mezcle la primera y tercera parte en la primera fila con el segundo y el cuarto en la segunda fila, retire las cuatro porciones restantes. Repita el procedimiento con las porciones retenidas hasta obtener el tamaño de muestra requerido.

2.5.3 Almacenamiento de las muestras después del análisis

El objetivo principal del almacenamiento de las muestras después del análisis, es que los análisis originales realizados sobre la muestra remitida sean repetibles. Por lo tanto, las condiciones de almacenamiento deben ser tales que los cambios en las características de calidad de semillas analizadas sean mínimos. Por ejemplo, en el caso del análisis de pureza u otro recuento de las semillas, la muestra debe ser almacenada en una manera tal que la identidad física se mantenga. En el caso de germinación, viabilidad o análisis de la salud de las semillas ortodoxas, la muestra debe ser almacenada en un lugar fresco y seco. Para este tipo de análisis con semillas recalcitrantes e intermedias de especies tropicales y subtropicales, el almacenamiento a largo plazo no es posible. Para tal semilla, la capacidad de almacenamiento de las especies templadas depende del estado de hongos y, en cierta medida, si la semilla está dormida o no. Es necesario determinar, por cada especie, todos los factores relacionados con el almacenamiento. Puede ser necesaria protección contra los insectos y roedores.

Para proporcionar nuevas pruebas por el original o por otro laboratorio de análisis de semillas, las muestras sobre las que los Certificados ISTA han sido emitidos, deben ser almacenadas por lo menos durante un año a partir de la recepción de la muestra. Muestras remitidas en recipientes a prueba de humedad, y muestras de especies recalcitrantes o intermedias, deben almacenarse en condiciones adecuadas durante el tiempo que se puede esperar que los resultados de una repetición de la prueba no se ven afectados por el almacenamiento.

Cuando se requiere una repetición del análisis en un diferente laboratorio de pruebas, se debe extraer de la muestra almacenada una parte de acuerdo con 2.5.2.2 y remitirla al laboratorio de prueba designado. El resto de la muestra-debe ser retenido en almacén.

2.5.4 Condiciones para la emisión de un Certificado Internacional Naranja del Lote de Semillas

Los métodos de muestreo establecidos en las Reglas ISTA se deben seguir cuando las muestras de semillas se extraen para la emisión de un Certificado Internacional Naranja del Lote de Semillas. Otras condiciones tienen que ser cumplidas como se indica a continuación.

2.5.4.1 Tamaño del lote de semillas

El lote de semillas no debe exceder la cantidad indicada en la columna 2 de la Tabla 2A, con una tolerancia del 5 %, con la excepción de:

a) semillas transportadas sueltas en contenedores a granel. Las condiciones en que podrá autorizarse esta excepción, se establecen en el Capítulo 17;
b) semillas en pellets, gránulos, semillas en cintas o semillas en matas. El número máximo de semillas que un lote de semillas en pellets, gránulos de semillas, semillas en cintas o semillas en matas puede contener es de 1 000 000 000 (10 000 unidades de 100 000), siempre que el peso del lote de semillas, incluyendo el material de revestimiento no supere los 40 000 kg, con una tolerancia del 5% (42 000 kg). Si el tamaño del lote de semillas se expresa en unidades del peso total del lote de semillas, hay que ponerlo en el Certificado Internacional Naranja del Lote de Semillas.
c) lotes de semillas de especies de *Poaceae* producidos en una empresa de semillas que ha sido aprobado para hacer lotes de semillas más grandes. Las condiciones en que esto puede ser permitido se establecen en 2.5.4.2.

d) lotes de semillas de especies de *Poaceae* producidos en una empresa de semillas que se ha solicitado la aprobación para hacer lotes de semillas más grandes de acuerdo con 2.5.4.2. La heterogeneidad del lote de semillas debe ser analizado de acuerdo con 2.9 y el lote de semillas no debe mostrar una heterogeneidad significativa.

El tamaño máximo del lote de semillas tratadas y incrustadas se define mediante la aplicación de las cantidades indicadas en la Tabla 2A a las semillas sin material de recubrimiento.

Un lote de semillas en exceso de la cantidad prescrita debe subdividirse en lotes de semillas no más grandes que la cantidad prescrita, cada uno de los cuales debe ser etiquetado o marcado con una identificación separada del lote de semilla.

2.5.4.2 Grandes lotes de semillas de *Poaceae*

2.5.4.2.1 Definiciones

Los grandes lotes de semillas de especies de Poaceae pueden tener un tamaño máximo de 25 000 kg (con una tolerancia del 5 %) si son producidos por una planta de producción autorizado.

A los efectos de grandes lotes de semillas de las especies de *Poaceae*, las siguientes especies con características similares son consideradas como dos grupos de especies:

Especies grupo 1: *Lolium perenne, Lolium multiflorum, Lolium ×hybridum* (anteriormente *Lolium ×boucheanum), ×Festulolium, Festuca pratensis, Festuca arundinacea* y *Phleum pratense.*

Especies grupo 2: *Festuca rubra, Festuca ovina, Festuca filiformis, Festuca heterophylla, Dactylis glomerata, Poa pratensis* y *Poa trivialis*.

Aprobación cual fue concedida tras las pruebas de heterogeneidad de las especies de un grupo, también es válida para todas las otras especies del mismo grupo.

Para todas las demás especies de *Poaceae*, la aprobación debe ser solicitada y concedida por separado para cada especie.

2.5.4.2.2 Aprobación

La aprobación se concede después de la prueba de heterogeneidad de seis grandes lotes de semillas del grupo de especie, o especies individuales, para las que se solicita la aprobación. Prueba de heterogeneidad debe llevarse a cabo de acuerdo a 2.9 y debe, como mínimo, basarse en la pureza y recuento de otras semillas. Al menos cinco de los seis lotes de semillas analizadas deben tener un nivel no significativo de heterogeneidad.

2.5.4.2.3 Comprobación del muestreo y del análisis

Después de la aprobación, los grandes lotes de semillas de una planta de producción deben ser monitoreados mediante comprobación del muestreo y más análisis de heterogeneidad, de acuerdo con 2.9 y como mínimo basado en pureza y recuento de otras semillas.

De los primeros 100 grandes lotes de semillas por grupo de especies, 4 son seleccionados al azar (4 % comprobación de muestreo) y analizados por la heterogeneidad. Si ninguno de estos son heterogéneos, la tasa de comprobación del muestreo se reduce al 3 % para los siguientes 100 lotes y al 2 % para los lotes subsiguientes.

Sin embargo, si se encuentra una comprobación de la muestra con una heterogeneidad significativa, la tasa de comprobacion de la muestra debe permanecer en 4 %, o de nuevo aumentarse de 3 a 4 % o de 2 a 3 %, según sea el caso (Fig. 2.1).

En seis consecutivas verificaciones de muestras, un máximo de una muestra puede mostrar una heterogeneidad significativa.

Por lo tanto, una muestra heterogénea debe ser seguida de por lo menos cinco muestras no heterogéneas para que la aprobación sea retenida (Fig. 2.1).

2.5.4.2.4 Retiro de la aprobación

Si más de una en las últimas seis verificaciones consecutivas de las muestras analizadas tiene heterogeneidad significativa, la aprobación debe ser retirada por las especies o grupo de especies y por la planta de producción en cuestión y la empresa debe volver a aplicar para su aprobación (Fig. 2.1).

2.5.4.2.5 Responsabilidad

La Autoridad Certificada o Designada en un país es responsable de:

– la decisión de aprobación de la compañía de semillas (planta de producción);
– asegurar que cada planta de producción está aprobada por separado, si es una empresa de semillas que tiene más de una planta de producción;
– asegurar que la prueba se lleva a cabo por un laboratorio acreditado por la ISTA;
– el programa de verificación del muestreo.

2.5.4.3 Marcado/etiquetado y sellado de envases

El lote de semillas debe estar en contenedores marcados/etiquetados que sean auto-sellados, sellados (o capaz de ser sellados) o bajo el control de la toma del muestreador de semillas.

Cuando el lote de semillas está ya marcado/etiquetado y sellado antes del muestreo, el muestreador de semillas debe verificar el marcado/etiquetado y sellado en cada contenedor. De otra manera el muestreador tiene que marcar/etiquetar los envases y debe sellar cada contenedor antes de que cese su control sobre el lote de semillas.

Los muestreadores son personalmente responsables de los sellos, de las etiquetas y de las bolsas suministrados a ellos y es su deber de garantizar que la muestra primaria, las muestras compuestas o las remitidas no deben dejarse en manos de personas no autorizadas por el laboratorio de análisis de semillas, a menos que estén selladas en de tal manera que no puedan ser manipuladas.

2.5.4.4 Muestreo del lote de semillas

Para el muestreo del lote de semillas deben ser utilizados los métodos enumerados en 2.5.1. Muestreadores automáticos de semillas deben ser aprobados por el laboratorio de análisis ISTA.

Un Certificado Internacional Naranja del Lote de Semillas emitido para un lote de semillas (ver 2.2.1), sigue siendo válido después de volver a empaquetar el lote de semillas en contenedores nuevos, siempre que:

a) Se conserve la identidad de las semillas en el lote inicial de semilla.
b) No se cambie la designación del lote de semillas (ver 2.2.10).
c) El movimiento de la semilla en los nuevos contenedores se realize bajo el control de un muestreador de semillas ISTA.
d) No hay procesamiento de la semilla durante el llenado de los nuevos contenedores.

2.5.4.5 Muestra remitida

Los tamaños mínimos de las muestras remitidas son los siguientes:

a) Para la determinación de la humedad, 100 g para las especies que deben ser molidas (véase la Tabla 9A) y 50 g para las demás especies. Cuando se van a utilizar medidores de humedad para el análisis, puede ser necesaria una muestra más grande. Póngase en contacto con el laboratorio de análisis ISTA para obtener instrucciones específicas.
b) Para la verificación de las especies y variedades, como se prescribe en Capítulo 8.
c) Para el resto de los análisis, por lo menos el peso prescrito en la columna 3 de la Tabla 2A. Siempre y cuando no se solicite una determinación de otras semillas por número, la muestra remitida debe pesar al menos la cantidad indicada para la muestra de trabajo para el análisis de la pureza en la columna 4 de la Tabla 2A. En el caso de las semillas en pellets, las muestras remitidas deben contener no menos de la cantidad de bolitas o semillas indicadas en la columna 2 de la Tabla 2B, Parte 1 y Parte 2. Siempre que no se solicite una determinación de otras semillas en número o tamaño de graduación, la muestra remitida solamente necesita contener, como mínimo, el número de semillas que se indican para la muestra de trabajo para el análisis de la pureza en la columna 3 de la Tabla 2B Partes 1 y 2.

Si la muestra remitida es menor que el indicado, el muestreador debe ser notificado en consecuencia y el análisis retenido hasta que se reciba suficiente semilla en una sola muestra remitida; excepto que en el caso de semillas muy caras, el análisis puede completarse en la medida posible y la siguiente declaración insertada en el certificado: “La muestra remitida sólo pesaba .....g [o en el caso de semillas en pelets “sólo contenían .... pelets (semillas))] y no está en conformidad con las Reglas Internacionales para el Ensayo de Semillas).

La muestra remitida debe ser sellada y etiquetada o marcada.

2.5.4.6 Reducción de la muestra

Para la reducción de la muestra, es obligatorio usar los métodos enumerados en 2.5.2.2.

2.5.4.7 Almacenamiento de las muestras remitidas después del análisis

Muestras remitidas en las que los Certificados ISTA han sido emitidos, deben ser almacenadas. Sólo en el caso de semillas muy caras, se puede enviar de nuevo a la parte demandante el resto de la muestra remitida, excepto 25 semillas para la garantía de la identidad. El laboratorio de análisis de semillas no se hace responsable de cualquier deterioro de la muestra durante el almacenamiento.

2.6 Cálculo y expresión de los resultados

Ningún cálculo específico o expresión de los resultados está requerido, salvo en 2.9 para las pruebas de heterogeneidad.

2.7 Indicación de los resultados

Ningún cálculo específico o expresión de los resultados está requerido, salvo en 2.9 para las pruebas de heterogeneidad.

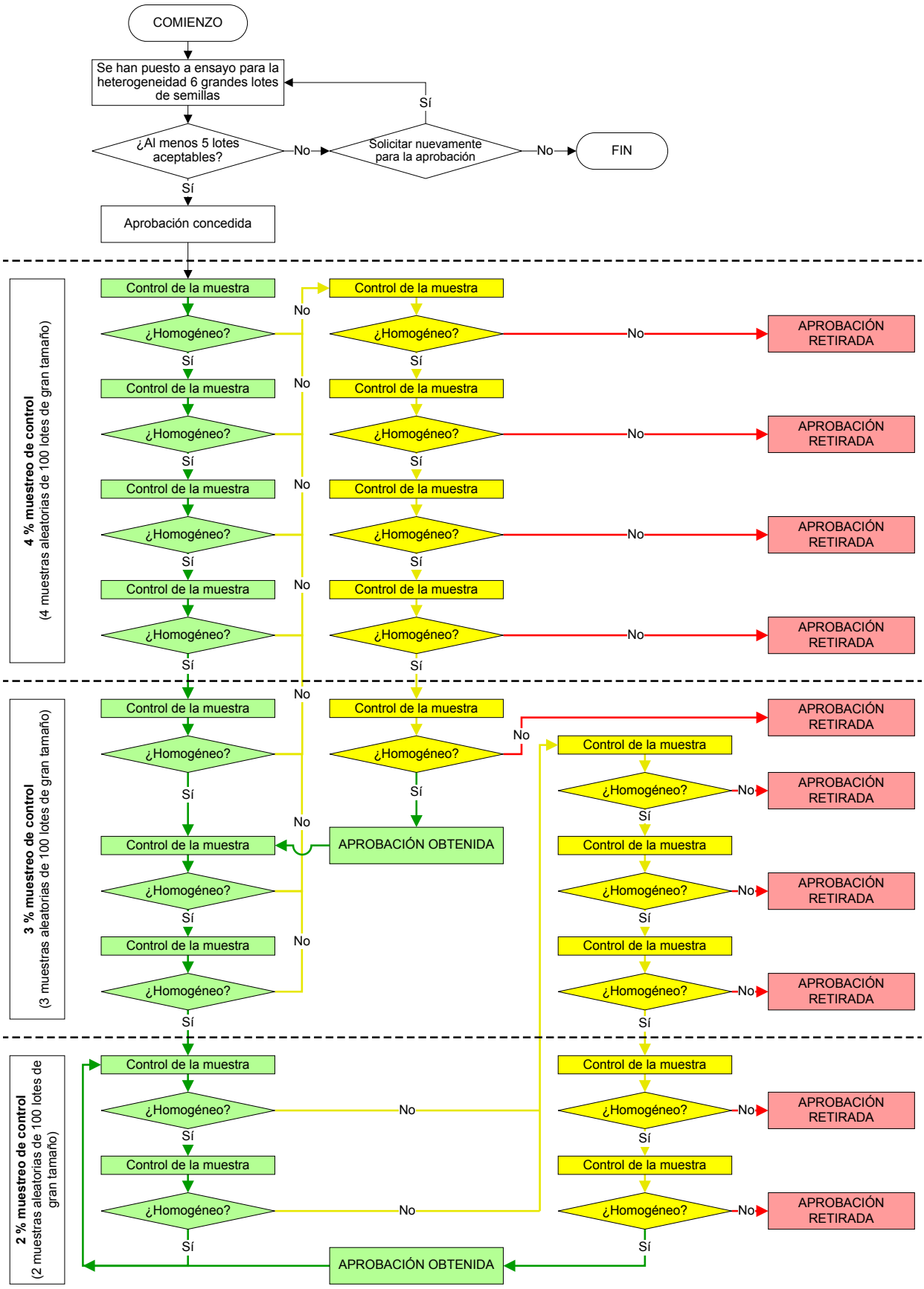


Figura 2.1. Diagrama de flujo que describe el procedimiento de aprobación y el programa de control del muestreo con respecto a grandes lotes de semillas de especies de Poaceae (2.5.4.2.2–4).

2.8 Tablas para tamaño del lote y tamaños de las muestras

Tabla 2A es mencionada en varios capítulos de las Reglas ISTA e indica los pesos de los lotes y de las muestras de diferentes especies y los nombres específicos que se utilizarán en los reportes de los resultados de los análisis.

Cada tamaño de la muestra deriva de un nominal de peso de mil semillas (TSW) para cada especie que, en la evidencia disponible, se espera que sea adecuada para la mayoría de las muestras analizadas.

Cuando no hay un peso en la tabla y se solicita un recuento de otras especies, la muestra remitida debe contener un mínimo de 25 000 semillas.

Nota 1: Nombres con un asterisco no están incluidos en la Lista Estabilizadas de las Plantas de la ISTA (*ISTA List of Stabilized Plant Names*). Nombres sin un asterisco se incluyen en la Lista Estabilizadas de las Plantas de la ISTA (pero no el sinónimo que corresponde a algunos de estos nombres) o, en el caso de los nombres genéricos (por ejemplo *Pyrus* spp.), conservados por el Congreso Internacional de Botánica (*International Botanical Congress*) y enumerados en el Código Internacional de Nomenclatura (*International Code of Nomenclature*). Se incluyen en esta versión de la Tabla 2A, los cambios en la lista estabilizada como acuerdos tomados en el 2013, durante el Congreso de la ISTA. Donde se han cambiado los nombres de las plantas, se incluye el nombre antiguo con una referencia cruzada a lado de la nueva denominación. Esto se aplica sólo a los cambios del Congreso 2013; se han eliminado las referencias cruzadas anteriores.

Nota 2: Para todas las especies el tamaño del lote de semillas máximo indicado, se puede superar en no más del 5 %, excepto para:

a) semillas transportadas sueltas en contenedores a granel. Se indican en el capítulo 17 las condiciones en que esta excepción puede ser permitida;
b) semillas en pellets o en gránulos, semillas en cintas o semillas en matas (véase 2.5.4.1);
c) especies de *Poaceae* enumeradas en la Tabla 2A Parte 1 (véase 2.5.4.2).

Para las producciones de plantas aprobadas bajo 2.5.4.2, el peso máximo de un lote de semillas para las especies de *Poaceae* enumeradas en la Tabla 2A Parte 1 es 25 000 kg (con un 5 % de tolerancia).

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Abelmoschus esculentus (L.) Moench	20 000	1 000	140	1 000
Achillea millefolium L.	10 000	5	0,5	5
Aeschynomene americana L.	10 000	120	12	120
Agropyron cristatum (L.) Gaertn.	10 000	40	4	40
Agropyron desertorum (Fisch. ex Link) Schult.	10 000	60	6	60
Agrostis canina L.	10 000	5	0,25	2,5
Agrostis capillaris L.	10 000	5	0,25	2,5
Agrostis gigantea Roth	10 000	5	0,25	2,5
Agrostis stolonifera L. (incluye *A. palustris* Hudson)	10 000	5	0,25	2,5
Allium cepa L.	10 000	80	8	80
Allium fistulosum L.	10 000	50	5	50
Allium porrum L.	10 000	70	7	70
Allium schoenoprasum L.	10 000	30	3	30
Allium tuberosum Rottler ex Spreng.	10 000	100	10	100
Alopecurus pratensis L.	10 000	30	3	30
Alysicarpus vaginalis (L.) DC.	10 000	40	4	40
Andropogon gayanus Kunth	10 000	80	8	80
Andropogon gerardi Vitman	10 000	70	7	70
Andropogon hallii Hack.	10 000	100	10	100
Anethum graveolens L.	10 000	40	4	40
Anthoxanthum odoratum L.	10 000	20	2	20
Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm.	10 000	60	6	60
Anthyllis vulneraria L.	10 000	60	6	60
Apium graveolens L.	10 000	10	1	10
Arachis hypogaea L.	30 000	1 000	1 000	1 000
Arctium lappa L.	10 000	50	5	50
Arrhenatherum elatius (L.) P.Beauv. ex J.Presl & C.Presl	10 000	80	8	80
Asparagus officinalis L.	20 000	1 000	100	1 000
Astragalus cicer L.	10 000	90	9	90
Astrebla lappacea (Lindl.) Domin	10 000	200	20	200
Atriplex hortensis L.	5 000	10	2,5	–
Atropa belladonna L.	10 000	30	3	30
Avena nuda L.	30 000	1 000	120	1 000
Avena sativa L.	30 000	1 000	120	1 000
Avena strigosa Schreb.	30 000	500	50	500
Axonopus compressus (Sw.) P.Beauv.	10 000	10	1	10
Axonopus fissifolius (Raddi) Kuhlm.	10 000	10	1	10
Beckmannia eruciformis (L.) Host	10 000	20	2	20
Beta vulgaris L. (todas las variedades)	20 000	500	50	500
Borago officinalis L.	10 000	450	45	450
Bothriochloa insculpta (Hochst. ex A.Rich.) A.Camus	10 000	20	2	20
Bothriochloa pertusa (L.) A.Camus	10 000	10	1	10
Bouteloua gracilis (Kunth) Lag. ex Griffiths	10 000	60	6	60
Brachiaria brizantha (Hochst. ex A.Rich) Stapf	10 000	100	10	100
Brachiaria decumbens Stapf	10 000	100	10	100
Brachiaria humidicola (Rendle) Schweick.	10 000	100	10	100
Brachiaria mutica (Forssk.) Stapf	10 000	30	3	30
Brachiaria ramosa (L.) Stapf	10 000	90	9	90
Brachiaria ruziziensis R.Germ. & C.M.Evrard	20 000	150	15	150
Brassica juncea (L.) Czern.	10 000	40	4	40
Brassica napus L.	10 000	100	10	100

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Brassica napus L. var. *napobrassica* (L.) Rchb.*	10 000	100	10	100
Brassica nigra (L.) W.D.J.Koch	10 000	40	4	40
Brassica oleracea L. (todas las variedades)	10 000	100	10	100
Brassica rapa L. (incluye *B. campestris* L. y las especies anteriormente conocidas como *B. chinensis, B. pekinensis* y *B. perviridis*)	10 000	70	7	70
Bromus arvensis L.	10 000	60	6	60
Bromus carinatus Hook. & Arn.	10 000	200	20	200
Bromus catharticus Vahl	10 000	200	20	200
Bromus erectus Huds.	10 000	100	10	100
Bromus hordeaceus L.	10 000	50	5	50
Bromus inermis Leyss.	10 000	90	9	90
Bromus marginatus Steud.	10 000	200	20	200
Bromus riparius Rehmann	10 000	90	9	90
Bromus sitchensis Trin.	10 000	200	20	200
Cajanus cajan (L.) Huth	20 000	1 000	300	1 000
Calopogonium mucunoides Desv.	20 000	400	40	400
Camelina sativa (L.) Crantz	10 000	40	4	40
Cannabis sativa L.	10 000	600	60	600
Capsicum spp.	10 000	150	15	150
Carthamus tinctorius L.	25 000	900	90	900
Carum carvi L.	10 000	80	8	80
Cenchrus ciliaris L. (fascículos)	10 000	60	6	60
Cenchrus setiger Vahl	20 000	150	15	150
Centrosema molle Mart. ex Benth. (anteriormente *Centrosema pubescens* Benth.)	20 000	600	60	600
Centrosema pascuorum Mart. ex Benth.	20 000	550	55	550
(*Centrosema pubescens* Benth. véase *Centrosema molle* Mart. ex Benth.)				
Chamaecrista rotundifolia (Pers.) Greene	10 000	100	10	100
Chloris gayana Kunth	10 000	10	1	10
Cicer arietinum L.	30 000	1 000	1 000	1 000
Cichorium endivia L.	10 000	40	4	40
Cichorium intybus L.	10 000	50	5	50
Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum. & Nakai	20 000	1 000	250	1 000
Claytonia perfoliata Donn ex Willd.	10 000	20	2	20
Corchorus capsularis L.	10 000	150	15	150
Corchorus olitorius L.	10 000	150	15	150
Coriandrum sativum L.	10 000	400	40	400
Crambe abyssinica Hochst. ex R.E.Fr.	10 000	200	20	200
Crotalaria brevidens Benth. (incluye *Crotalaria intermedia* Kotschy)	10 000	150	15	150
Crotalaria juncea L.	10 000	700	70	700
Crotalaria lanceolata E.Mey.	10 000	70	7	70
Crotalaria pallida Aiton	10 000	150	15	150
Crotalaria spectabilis Roth	10 000	350	35	350
Cucumis melo L.	10 000	150	70	–
Cucumis sativus L.	10 000	150	70	–
Cucumis spp.	10 000	150	70	–
Cucurbita maxima Duchesne	20 000	1 000	700	1 000
Cucurbita moschata Duchesne	10 000	350	180	–

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Cucurbita pepo L.	20 000	1 000	700	1 000
Cucurbita spp.	10 000	350	180	–
Cucurbita, híbridos	10 000	350	180	–
Cuminum cyminum L.	10 000	60	6	60
Cyamopsis tetragonoloba (L.) Taub.	20 000	1 000	100	1 000
Cynara cardunculus L.	10 000	900	90	900
Cynodon dactylon (L.) Pers.	10 000	10	1	10
Cynosurus cristatus L.	10 000	20	2	20
Dactylis glomerata L.	10 000	30	3	30
Daucus carota L.	10 000	30	3	30
Deschampsia cespitosa (L.) P.Beauv.	10 000	10	1	10
Deschampsia flexuosa (L.) Trin.	10 000	10	1	10
Desmodium intortum (Mill.) Urb.	10 000	40	4	40
Desmodium uncinatum (Jacq.) DC.	20 000	120	12	120
Dichanthium aristatum (Poir.) C.E.Hubb.	10 000	30	3	30
Dichondra micrantha Urb. (anteriormente *Dichondra repens* J.R.Forst. & G.Forst.)	10 000	50	5	50
Digitaria eriantha Steud. (incluye *Digitaria decumbens* Stent)	10 000	12	1,2	12
Echinochloa crus-galli (L.) P.Beauv.	10 000	80	8	80
Ehrharta calycina Sm.	10 000	40	4	40
Eleusine coracana (L.) Gaertn.	10 000	60	6	60
Elymus lanceolatus (Scribn. & J.G.Sm.) Gould	10 000	80	8	80
Elymus trachycaulus (Link) Gould ex Shinners	10 000	80	8	80
Elytrigia elongata (Host) Nevski	10 000	200	20	200
Elytrigia intermedia (Host) Nevski	10 000	150	15	150
Elytrigia repens (L.) Desv. ex Nevski	10 000	100	10	100
Eragrostis curvula (Schrad.) Nees	10 000	10	1	10
Eragrostis tef (Zuccagni) Trotter	10 000	10	1	10
Eruca sativa Mill.	10 000	40	4	40
Fagopyrum esculentum Moench	10 000	600	60	600
Festuca arundinacea Schreb.	10 000	50	5	50
Festuca filiformis Pourr.	10 000	25	2,5	25
Festuca heterophylla Lam.	10 000	60	6	60
Festuca ovina L. (todas las variedades)	10 000	25	2,5	25
Festuca pratensis Huds.	10 000	50	5	50
Festuca rubra L. s.l. (todas las variedades)	10 000	30	3	30
Festuca trachyphylla (Hack.) Krajina (sinónimo *Festuca brevipila* R.Tracey)	10 000	25	2,5	25
×*Festulolium* Asch. & Graebn.	10 000	60	6	60
Foeniculum vulgare Mill.	10 000	180	18	180
Fragaria spp.	10 000	10	1	10
Galega orientalis Lam.	10 000	200	20	200
Glycine max (L.) Merr.	30 000	1 000	500	1 000
Gossypium spp.	25 000	1 000	350	1 000
Hedysarum coronarium L. (fruto)	10 000	300	30	300
Hedysarum coronarium L. (semilla)	10 000	120	12	120
Helianthus annuus L.	25 000	1 000	200	1 000
Hibiscus cannabinus L.	10 000	700	70	700
Holcus lanatus L.	10 000	10	1	10
Hordeum vulgare L.	30 000	1 000	120	1 000
Ipomoea aquatica Forssk.	20 000	1 000	100	1 000

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Koeleria macrantha (Ledeb.) Schult.	10 000	10	1	10
Kummerowia stipulacea (Maxim.) Makino	10 000	50	5	50
Kummerowia striata (Thunb.) Schindl.	10 000	40	4	40
Lablab purpureus (L.) Sweet	20 000	1 000	600	1 000
Lactuca sativa L.	10 000	30	3	30
Lagenaria siceraria (Molina) Standl.	20 000	1 000	500	1 000
Lathyrus cicera L.	20 000	1 000	140	1 000
Lathyrus hirsutus L.	10 000	700	70	700
Lathyrus sativus L.	20 000	1 000	450	1 000
Lens culinaris Medik.	30 000	600	60	600
Lepidium sativum L.	10 000	60	6	60
Lespedeza juncea (L. f.) Pers.	10 000	30	3	30
Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit	20 000	1 000	100	1 000
Linum usitatissimum L.	10 000	150	15	150
Listia bainesii (Baker) B.-E.van Wyk & Boatwr. (anteriormente *Lotononis bainesii* Baker)	10 000	10	1	10
Lolium ×hybridum Hausskn. (anteriormente *Lolium ×boucheanum* Kunth)	10 000	60	6	60
Lolium multiflorum Lam.	10 000	60	6	60
Lolium perenne L.	10 000	60	6	60
Lolium rigidum Gaudin	10 000	60	6	60
(*Lotononis bainesii* Baker véase *Listia bainesii* (Baker) B.-E. van Wyk & Boatwr.)				
Lotus corniculatus L.	10 000	30	3	30
Lotus tenuis Waldst. & Kit. ex Willd.	10 000	30	3	30
Lotus uliginosus Schkuhr	10 000	20	2	20
Luffa acutangula (L.) Roxb.	20 000	1 000	400	1 000
Luffa aegyptiaca Mill.	20 000	1 000	250	1 000
Lupinus albus L.	30 000	1 000	450	1 000
Lupinus angustifolius L.	30 000	1 000	450	1 000
Lupinus luteus L.	30 000	1 000	450	1 000
(*Lycopersicon esculentum* Mill. véase *Solanum lycopersicum* L.)				
(*Lycopersicon* spp. véase *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) spp.)				
(*Lycopersicon*, hybrides véase *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) híbridos)				
Macroptilium atropurpureum (DC.) Urb.	20 000	350	35	350
Macroptilium lathyroides (L.) Urb.	20 000	200	20	200
Macrotyloma axillare (E.Mey.) Verdc.	20 000	250	25	250
Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc.	20 000	800	80	800
Medicago arabica (L.) Huds. (en el fruto)	10 000	600	60	600
Medicago arabica (L.) Huds. (fuera del fruto)	10 000	50	5	50
Medicago italica (Mill.) Fiori (incluye *Medicago tornata* (L.) Mill.)	10 000	100	10	100
Medicago littoralis Rohde ex Loisel.	10 000	70	7	70
Medicago lupulina L.	10 000	50	5	50
Medicago orbicularis (L.) Bartal.	10 000	80	8	80
Medicago polymorpha L.	10 000	70	7	70
Medicago rugosa Desr.	10 000	180	18	180
Medicago sativa L.	10 000	50	5	50
Medicago scutellata (L.) Mill.	10 000	400	40	400

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Medicago truncatula Gaertn.	10 000	100	10	100
Melilotus albus Medik.	10 000	50	5	50
Melilotus indicus (L.) All.	10 000	50	5	50
Melilotus officinalis (L.) Lam.	10 000	50	5	50
Melinis minutiflora P.Beauv.	10 000	5	0,5	5
Momordica charantia L.	20 000	1 000	450	1 000
Mucuna pruriens (L.) DC. (incluye especies anteriormente conocidas como *M. aterrima* (Piper & Tracy) Holland, *M. cochinchinensis* (Lour.) A.Chev. y *Stizolobium deeringianum* Bort.)	20 000	1 000	1 000	1 000
Nasturtium officinale R.Br.	10 000	5	0,5	5
Neonotonia wightii (Wight & Arn.) J.A.Lackey	10 000	150	15	150
Nicotiana tabacum L.	10 000	5	0,5	5
Ocimum basilicum L.	10 000	40	4	40
Oenothera biennis L.	10 000	10	1	10
Onobrychis viciifolia Scop. (fruto)	10 000	600	60	600
Onobrychis viciifolia Scop. (semilla)	10 000	400	40	400
Origanum majorana L.	10 000	5	0,5	5
Origanum vulgare L.	10 000	5	0,5	5
Ornithopus compressus L.	10 000	120	12	120
Ornithopus sativus Brot.	10 000	90	9	90
Oryza sativa L.	30 000	700	70	700
Panicum antidotale Retz.	10 000	20	2	20
Panicum coloratum L.	10 000	20	2	20
Panicum maximum Jacq.	10 000	20	2	20
Panicum miliaceum L.	10 000	150	15	150
Panicum virgatum L.	10 000	30	3	30
Papaver somniferum L.	10 000	10	1	10
Pascopyrum smithii (Rydb.) Barkworth & D.R.Dewey	10 000	150	15	150
Paspalum dilatatum Poir.	10 000	50	5	50
Paspalum notatum Flüggé	10 000	70	7	70
Paspalum plicatulum Michx.	10 000	40	4	40
Paspalum scrobiculatum L.	10 000	80	8	80
Paspalum urvillei Steud.	10 000	30	3	30
Paspalum virgatum L. (anteriormente *Paspalum wettsteinii* Hack.)	10 000	30	3	30
Pastinaca sativa L.	10 000	100	10	100
Pennisetum clandestinum Hochst. ex Chiov.	10 000	70	7	70
Pennisetum glaucum (L.) R.Br.	10 000	150	15	150
Petroselinum crispum (Mill.) Fuss	10 000	40	4	40
Phacelia tanacetifolia Benth.	10 000	50	5	50
Phalaris aquatica L.	10 000	40	4	40
Phalaris arundinacea L.	10 000	30	3	30
Phalaris canariensis L.	10 000	200	20	200
Phaseolus coccineus L.	30 000	1 000	1 000	1 000
Phaseolus lunatus L.	30 000	1 000	1 000	1 000
Phaseolus vulgaris L.	30 000	1 000	700	1 000
Phleum nodosum L.	10 000	10	1	10
Phleum pratense L.	10 000	10	1	10
Physalis pubescens L.	10 000	20	2	20
Pimpinella anisum L.	10 000	70	7	70

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Piptatherum miliaceum (L.) Coss.	10 000	20	2	20
Pisum sativum L. s.l.	30 000	1 000	900	1 000
Plantago lanceolata L.	10 000	60	6	60
Poa annua L.	10 000	10	1	10
Poa bulbosa L.	10 000	30	3	30
Poa compressa L.	10 000	5	0,5	5
Poa nemoralis L.	10 000	5	0,5	5
Poa palustris L.	10 000	5	0,5	5
Poa pratensis L.	10 000	5	1	5
Poa secunda J.Presl (incluye *Poa ampla* Merr.)	10 000	15	1,5	15
Poa trivialis L.	10 000	5	1	5
Portulaca oleracea L.	10 000	5	0,5	5
Psathyrostachys juncea (Fisch.) Nevski	10 000	60	6	60
Pseudoroegneria spicata (Pursh) Á.Löve	10 000	80	8	80
Psophocarpus tetragonolobus (L) DC.	20 000	1 000	1 000	1 000
Pueraria lobata (Willd.) Ohwi	10 000	350	35	350
Pueraria phaseoloides (Roxb.) Benth.	20 000	300	30	300
Raphanus sativus L.	10 000	300	30	300
Rheum rhaponticum L.	10 000	450	45	450
Ricinus communis L.	20 000	1 000	500	1 000
Rosmarinus officinalis L.	10 000	30	3	30
Rumex acetosa L.	10 000	30	3	30
Sanguisorba minor Scop.	10 000	250	25	250
Satureja hortensis L.	10 000	20	2	20
Schizachyrium scoparium (Michx.) Nash	10 000	50	5	50
Scorzonera hispanica L.	10 000	300	30	300
Secale cereale L.	30 000	1 000	120	1 000
Securigera varia (L.) Lassen	10 000	100	10	100
Sesamum indicum L.	10 000	70	7	70
Setaria italica (L.) P.Beauv.	10 000	90	9	90
Setaria sphacelata (Schumach.) Stapf & C.E.Hubb.	10 000	30	3	30
Sinapis alba L.	10 000	200	20	200
Solanum (sect. *Lycopersicon*) spp. (anteriormente *Lycopersicon* spp.)	10 000	15	7	–
Solanum (sect. *Lycopersicon*), hybrides (anteriormente *Lycopersicon,* hybrides)	10 000	15	7	–
Solanum lycopersicum L. (anteriormente *Lycopersicon esculentum* Mill.)	10 000	15	7	–
Solanum melongena L.	10 000	150	15	150
Solanum nigrum L.	10 000	25	2,5	25
Solanum tuberosum L.	10 000	25	10	–
Sorghastrum nutans (L.) Nash	10 000	70	7	70
Sorghum ×almum Parodi	30 000	200	20	200
Sorghum bicolor (L.) Moench	30 000	900	90	900
Sorghum bicolor (L.) Moench × *S. sudanense* (Piper) Stapf	30 000	300	30	300
Sorghum halepense (L.) Pers.	10 000	90	9	90
Sorghum sudanense (Piper) Stapf	10 000	250	25	250
Spergula arvensis L.	10 000	40	4	40
Spinacia oleracea L.	10 000	250	25	250
Stylosanthes guianensis (Aubl.) Sw.	10 000	70	7	70
Stylosanthes hamata (L.) Taub.	10 000	70	7	70

Tabla 2A Parte 1. Tamaño del lote y tamaños de las muestras: semillas agrícolas y vegetables (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo (g)	
			Análisis de la pureza (3.5.1)	Otras semillas por número (4.5.1)
1	2	3	4	5
Stylosanthes humilis Kunth	10 000	70	7	70
Stylosanthes scabra Vogel	10 000	80	8	80
Taraxacum officinale F.H.Wigg., s.l.	10 000	30	3	30
Tetragonia tetragonoides (Pall.) Kuntze	20 000	1 000	200	1 000
Thymus vulgaris L.	10 000	5	0,5	5
Tragopogon porrifolius L.	10 000	400	40	400
Trifolium alexandrinum L.	10 000	60	6	60
Trifolium campestre Schreb.	10 000	5	0,5	5
Trifolium dubium Sibth.	10 000	20	2	20
Trifolium fragiferum L.	10 000	40	4	40
Trifolium glomeratum L.	10 000	10	1	10
Trifolium hirtum All.	10 000	70	7	70
Trifolium hybridum L.	10 000	20	2	20
Trifolium incarnatum L.	10 000	80	8	80
Trifolium lappaceum L.	10 000	20	2	20
Trifolium michelianum Savi (incluye *Trifolium balansae* Boiss.)	10 000	20	2	20
Trifolium pratense L.	10 000	50	5	50
Trifolium repens L.	10 000	20	2	20
Trifolium resupinatum L.	10 000	20	2	20
Trifolium semipilosum Fresen.	10 000	20	2	20
Trifolium squarrosum L.	10 000	150	15	150
Trifolium subterraneum L.	10 000	250	25	250
Trifolium vesiculosum Savi	10 000	30	3	30
Trigonella foenum-graecum L.	10 000	450	45	450
Trisetum flavescens (L.) P.Beauv.	10 000	5	0,5	5
×*Triticosecale Wittm.* ex A.Camus	30 000	1 000	120	1 000
Triticum aestivum L.	30 000	1 000	120	1 000
Triticum dicoccon Schrank	30 000	1 000	270	1 000
Triticum durum Desf.	30 000	1 000	120	1 000
Triticum spelta L.	30 000	1 000	270	1 000
Urochloa mosambicensis (Hack.) Dandy	10 000	30	3	30
Valerianella locusta (L.) Laterr.	10 000	70	7	70
Vicia benghalensis L.	30 000	1 000	120	1 000
Vicia ervilia (L.) Willd.	30 000	1 000	120	1 000
Vicia faba L.	30 000	1 000	1 000	1 000
Vicia narbonensis L.	30 000	1 000	600	1 000
Vicia pannonica Crantz	30 000	1 000	120	1 000
Vicia sativa L. (incluye *V. angustifolia* L.)	30 000	1 000	140	1 000
Vicia villosa Roth (incluye *V. dasycarpa* Ten.)	30 000	1 000	100	1 000
Vigna angularis (Willd.) Ohwi & H.Ohashi	30 000	1 000	250	1 000
Vigna marina (Burm.) Merr.	30 000	800	80	800
Vigna mungo (L.) Hepper	30 000	1 000	700	1 000
Vigna radiata (L.) R.Wilczek	30 000	1 000	120	1 000
Vigna subterranea (L.) Verdc.	30 000	1 000	500	1 000
Vigna unguiculata (L.) Walp.	30 000	1 000	400	1 000
Zea mays L.	40 000	1 000	900	1 000
Zoysia japonica Steud.	10 000	10	1	10

Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Abies alba Mill.	1 000	240	120
Abies amabilis Douglas ex J. Forbes	1 000	200	100
Abies balsamea (L.) Mill.	1 000	40	20
Abies cephalonica Loudon	1 000	360	180
Abies cilicica (Antoine & Kotschy) Carrière	1 000	1 000	500
Abies concolor (Gordon & Glend.) Lindl. ex Hildebr.	1 000	160	80
Abies firma Siebold & Zucc.	1 000	200	100
Abies fraseri (Pursh) Poir.	1 000	40	20
Abies grandis (Douglas ex D. Don) Lindl.	1 000	100	50
Abies homolepis Siebold & Zucc.	1 000	80	40
Abies lasiocarpa (Hook.) Nutt.	1 000	50	25
Abies magnifica A. Murray	1 000	400	200
Abies nordmanniana (Steven) Spach	1 000	360	180
Abies numidica de Lannoy ex Carrière	1 000	500	250
Abies pinsapo Boiss.	1 000	320	160
Abies procera Rehder	1 000	160	80
Abies sachalinensis (F. Schmidt) Mast.	1 000	60	30
Abies veitchii Lindl.	1 000	40	20
Acacia spp.	1 000	70	35
Acer campestre L.	1 000	400	200
Acer negundo L.	500	200	100
Acer palmatum Thunb.	500	100	50
Acer platanoides L.	500	700	350
Acer pseudoplatanus L.	500	600	300
Acer rubrum L.	500	100	50
Acer saccharinum L.	500	1 000	500
Acer saccharum Marshall	500	360	180
Aesculus hippocastanum L.	5 000	500 semillas	500 semillas
Ailanthus altissima (Mill.) Swingle	1 000	160	80
Alnus cordata (Loisel.) Duby	1 000	12	6
Alnus glutinosa (L.) Gaertn.	1 000	8	4
Alnus incana (L.) Moench	1 000	4	2
Alnus rubra Bong.	1 000	4	2
Amorpha fruticosa L.	1 000	1 000	150
Berberis aquifolium Pursh (anteriormente *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt.)	1 000	60	30
Betula papyrifera Marshall	300	10	3
Betula pendula Roth	300	10	1
Betula pubescens Ehrh.	300	10	1
Calocedrus decurrens (Torr.) Florin	300	160	80
Caragana arborescens Lam.	1 000	160	80
Carpinus betulus L.	1 000	500	250
Castanea sativa Mill.	5 000	500 semillas	500 semillas
Catalpa spp.*	1 000	120	60
Cedrela spp.	1 000	80	40
Cedrus atlantica (Endl.) G. Manetti ex Carrière	1 000	400	200
Cedrus deodara (Roxb. ex D. Don) G. Don	1 000	600	300
Cedrus libani A. Rich.	1 000	400	200
Chamaecyparis lawsoniana (A. Murray) Parl.	1 000	20	6
Chamaecyparis nootkatensis (D. Don) Spach	1 000	20	10
Chamaecyparis obtusa (Siebold & Zucc.) Endl.	1 000	12	6
Chamaecyparis pisifera (Siebold & Zucc.) Endl.	1 000	10	3
Chamaecyparis thyoides (L.) Britton et al.	1 000	10	3

Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Cornus mas L.	1 000	1 000	600
Cornus sanguinea L.	1 000	300	150
Corylus avellana L.	5 000	500 frutos	500 frutos
Corymbia citriodora (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson (anteriormente *Eucalyptus citriodora* Hook.)	1 000	40	15
Corymbia ficifolia (F. Muell.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson (anteriormente *Eucalyptus ficifolia* F. Muell.)	1 000	40	15
Corymbia maculata (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson (anteriormente *Eucalyptus maculata* Hook.)	1 000	40	15
Cotoneaster spp.*	1 000	40	20
Crataegus monogyna Jacq.	1 000	400	200
Cryptomeria japonica (L. f.) D. Don	1 000	20	10
Cupressus arizonica Greene	1 000	60	30
Cupressus macrocarpa Hartw.	1 000	40	20
Cupressus sempervirens L.	1 000	40	20
Cydonia oblonga Mill.	1 000	50	25
Cytisus scoparius (L.) Link	1 000	40	20
Elaeagnus angustifolia L.	1 000	800	400
Eucalyptus astringens (Maiden) Maiden	1 000	40	15
Eucalyptus botryoides Sm.	1 000	15	5
Eucalyptus bridgesiana R. T. Baker	1 000	30	10
Eucalyptus camaldulensis Dehnh.	1 000	15	5
Eucalyptus cinerea F. Muell. ex Benth.	1 000	30	10
(*Eucalyptus citriodora* Hook. véase *Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson)			
Eucalyptus cladocalyx F. Muell.	1 000	40	15
Eucalyptus cloeziana F. Muell.	1 000	40	15
Eucalyptus cypellocarpa L. A. S. Johnson	1 000	30	10
Eucalyptus dalrympleana Maiden	1 000	30	10
Eucalyptus deanei Maiden	1 000	15	5
Eucalyptus deglupta Blume	1 000	10	2
Eucalyptus delegatensis R. T. Baker	1 000	40	15
Eucalyptus elata Dehnh.	1 000	40	15
Eucalyptus fastigata H. Deane & Maiden	1 000	40	15
(*Eucalyptus ficifolia* F. Muell. véase *Corymbia ficifolia* (F. Muell.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson)			
Eucalyptus glaucescens Maiden & Blakely	1 000	40	15
Eucalyptus globulus Labill. (incluye *E. maidenii* F. Muell. et *E. saint-johnii* (R. T. Baker) R. T. Baker)	1 000	60	20
Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden	1 000	15	5
Eucalyptus gunnii Hook. f.	1 000	15	5
Eucalyptus largiflorens F. Muell.	1 000	15	5
Eucalyptus leucoxylon F. Muell.	1 000	30	10
Eucalyptus macrorhyncha F. Muell. ex Benth.	1 000	40	15
(*Eucalyptus maculata* Hook. véase *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson)			
Eucalyptus mannifera Mudie	1 000	15	5
Eucalyptus melliodora A. Cunn. ex Schauer	1 000	30	10
Eucalyptus microtheca F. Muell.	1 000	15	5
Eucalyptus moluccana Roxb.	1 000	30	10
Eucalyptus muelleriana A. W. Howitt	1 000	60	20
Eucalyptus nitens (H. Deane & Maiden) Maiden	1 000	30	10
Eucalyptus pauciflora Sieber ex Spreng. (incluye *E. niphophila* Maiden & Blakely)	1 000	60	20

Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Eucalyptus pilularis Sm.	1 000	60	20
Eucalyptus polybractea R. T. Baker	1 000	60	20
Eucalyptus radiata Sieber ex DC.	1 000	40	15
Eucalyptus regnans F. Muell.	1 000	30	10
Eucalyptus resinifera Sm.	1 000	30	10
Eucalyptus robusta Sm.	1 000	15	5
Eucalyptus rudis Endl.	1 000	15	5
Eucalyptus saligna Sm.	1 000	15	5
Eucalyptus sideroxylon A. Cunn. ex Woolls	1 000	30	10
Eucalyptus sieberi L. A. S. Johnson	1 000	40	15
Eucalyptus smithii R. T. Baker	1 000	30	10
Eucalyptus tereticornis Sm.	1 000	15	5
Eucalyptus viminalis Labill.	1 000	30	10
Euonymus europaeus L.	1 000	200	100
Fagus sylvatica L.	5 000	1 000	600
Fraxinus spp.	1 000	400	200
Ginkgo biloba L.	5 000	500 semillas	500 semillas
Gleditsia triacanthos L.	1 000	800	400
Ilex aquifolium L.	1 000	200	90
Juniperus communis L. (bayas)	1 000	300	150
Juniperus communis L. (semillas)	1 000	40	20
Juniperus scopulorum Sarg.	1 000	70	35
Juniperus virginiana L.	1 000	100	50
Koelreuteria paniculata Laxm.	1 000	800	400
Laburnum alpinum (Mill.) J. Presl	1 000	140	70
Laburnum anagyroides Medik.	1 000	140	70
Larix decidua Mill.	1 000	35	17
Larix ×eurolepis A. Henry	1 000	35	16
Larix gmelinii (Rupr.) Rupr.	1 000	25	10
Larix kaempferi (Lamb.) Carrière	1 000	24	10
Larix laricina (Du Roi) K. Koch	1 000	25	10
Larix occidentalis Nutt.	1 000	25	10
Larix sibirica Ledeb.	1 000	25	10
Ligustrum vulgare L.	1 000	100	50
Liquidambar styraciflua L.	300	30	15
Liriodendron tulipifera L.	1 000	180	90
(*Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt. véase *Berberis aquifolium* Pursh)			
Malus spp. (excepto *M. sargentii, M. sylvestris*)	1 000	50	25
Malus sargentii Rehder	1 000	24	12
Malus sylvestris (L.) Mill.	1 000	160	80
Malva sylvestris L.	5 000	30	15
Morus spp.	1 000	20	5
Nothofagus alpina (Poepp. & Endl.) Oerst.	1 000	50	25
Nothofagus obliqua (Mirb.) Blume	1 000	60	30
Picea abies (L.) H. Karst.	1 000	40	20
Picea engelmannii Parry ex Engelm.	1 000	16	8
Picea glauca (Moench) Voss	1 000	10	5
Picea glehnii (F. Schmidt) Mast.	1 000	25	9
Picea jezoensis (Siebold & Zucc.) Carrière	1 000	25	7
Picea koyamae Shiras.	1 000	25	9
Picea mariana (Mill.) Britton et al.	1 000	6	3
Picea omorika (Pančić) Purk.	1 000	25	8
Picea orientalis (L.) Link	1 000	30	15

Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Picea polita (Siebold & Zucc.) Carrière	1 000	80	40
Picea pungens Engelm.	1 000	30	15
Picea rubens Sarg.	1 000	25	9
Picea sitchensis (Bong.) Carrière	1 000	12	6
Pinus albicaulis Engelm.	1 000	700	350
Pinus aristata Engelm.	1 000	100	50
Pinus banksiana Lamb.	1 000	25	9
Pinus brutia Ten.	1 000	100	50
Pinus canariensis C. Sm.	1 000	60	30
Pinus caribaea Morelet	1 000	100	50
Pinus cembra L.	1 000	1 000	700
Pinus cembroides Zucc.	1 000	1 000	700
Pinus clausa (Chapm. ex Engelm.) Vasey ex Sarg.	1 000	40	20
Pinus contorta Douglas ex Loudon	1 000	25	9
Pinus coulteri D. Don	1 000	1 000	900
Pinus densiflora Siebold & Zucc.	1 000	60	30
Pinus echinata Mill.	1 000	50	25
Pinus edulis Engelm.	1 000	1 000	700
Pinus elliottii Engelm.	1 000	160	80
Pinus flexilis E. James	1 000	500	250
Pinus glabra Walter	1 000	80	40
Pinus halepensis Mill.	1 000	100	50
Pinus heldreichii Christ	1 000	120	60
Pinus jeffreyi Balf.	1 000	600	300
Pinus kesiya Royle ex Gordon (“*khasya*”)	1 000	80	40
Pinus koraiensis Siebold & Zucc.	1 000	2 000	1 000
Pinus lambertiana Douglas	1 000	1 000	500
Pinus merkusii Jungh. & de Vriese	1 000	120	60
Pinus monticola Douglas ex D. Don	1 000	90	45
Pinus mugo Turra	1 000	40	20
Pinus muricata D. Don	1 000	50	25
Pinus nigra J. F. Arnold	1 000	100	50
Pinus oocarpa Schiede ex Schltdl.	1 000	70	35
Pinus palustris Mill.	1 000	500	250
Pinus parviflora Siebold & Zucc.	1 000	500	250
Pinus patula Schltdl. & Cham.	1 000	40	20
Pinus peuce Griseb.	1 000	240	120
Pinus pinaster Aiton	1 000	240	120
Pinus pinea L.	1 000	1 000	1 000
Pinus ponderosa P. Lawson & C. Lawson	1 000	200	100
Pinus pumila (Pall.) Regel	1 000	40	20
Pinus radiata D. Don	1 000	160	80
Pinus resinosa Aiton	1 000	50	25
Pinus rigida Mill.	1 000	40	20
Pinus strobus L.	1 000	90	45
Pinus sylvestris L.	1 000	40	20
Pinus tabuliformis Carrière	1 000	100	50
Pinus taeda L.	1 000	140	70
Pinus taiwanensis Hayata	1 000	100	50
Pinus thunbergii Parl.	1 000	70	35
Pinus virginiana Mill.	1 000	50	25
Pinus wallichiana A. B. Jacks.	1 000	250	125
Platanus spp.	1 000	25	6
Platycladus orientalis (L.) Franco	1 000	120	60
Populus spp.	50	5	2

Tabla 2A Parte 2. Peso de los lotes y de los muestreos: semillas de árboles y de arbustos (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Prunus avium (L.) L.	1 000	900	450
Prunus padus L.	1 000	360	180
Prunus persica (L.) Batsch	5 000	500 semillas	500 semillas
Prunus serotina Ehrh.	1 000	500	250
Prunus spp. (TSW ≤ 200 g)	1 000	1 000	500
Prunus spp. (TSW > 200 g)	1 000	500 semillas	500 semillas
Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco	1 000	60	30
Pyrus spp.	1 000	180	90
Quercus spp.	5 000	500 semillas	500 semillas
Robinia pseudoacacia L.	1 000	100	50
Rosa spp.	1 000	50	25
Salix spp.	50	5	2
Sequoia sempervirens (D. Don) Endl.	1 000	25	12
Sequoiadendron giganteum (Lindl.) J. Buchholz	1 000	25	12
Sorbus spp.	1 000	25	10
Spartium junceum L.	1 000	40	20
Styphnolobium japonicum (L.) Schott	1 000	100	50
Syringa spp.	1 000	30	15
Taxodium distichum (L.) Rich.	300	500	250
Taxus spp.	1 000	320	160
Tectona grandis L. f.	1 000	2 000	1 000
Thuja occidentalis L.	1 000	25	4
Thuja plicata Donn ex D. Don	1 000	10	3
Tilia cordata Mill.	1 000	180	90
Tilia platyphyllos Scop.	1 000	500	250
Tsuga canadensis (L.) Carrière	1 000	25	7
Tsuga heterophylla (Raf.) Sarg.	1 000	10	4
Ulmus americana L.	1 000	30	15
Ulmus parvifolia Jacq.	1 000	20	8
Ulmus pumila L.	1 000	30	15
Viburnum opulus L.	1 000	160	80
Zelkova serrata (Thunb.) Makino	1 000	60	30

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Abutilon ×hybridum hort. ex Voss	5000	40	10
Achillea clavennae L.	5000	5	0,5
Achillea filipendulina Lam.	5000	5	0,5
Achillea ptarmica L.	5000	5	0,5
Achillea umbellata Sm.	5000	5	0,5
Adonis vernalis L.	5000	20	5
Ageratum houstonianum Mill.	5000	5	0,5
Agrimonia eupatoria L.	5000	200	50
Alcea rosea L.	5000	80	20
Althaea, híbridos	5000	80	20
Althaea officinalis L.	5000	80	20
Alyssum argenteum All.	5000	10	3
Alyssum montanum L.	5000	10	3
Amaranthus caudatus L.	5000	10	2
Amaranthus cruentus L.	5000	10	2
Amaranthus hybridus L.	5000	10	2
Amaranthus tricolor L.	5000	10	2
Amberboa moschata (L.) DC.	5000	40	10
Ammobium alatum R. Br.	5000	5	1
Anagallis arvensis L.	5000	10	2
Anchusa azurea Mill.	5000	100	25
Anchusa capensis Thunb.	5000	40	10
Anemone coronaria L.	5000	10	3
Anemone pulsatilla L.	5000	10	3
Anemone sylvestris L.	5000	10	3
Angelica archangelica L.	5000	40	10
Antirrhinum majus L.	5000	5	0,5
Aquilegia alpina L.	5000	20	4
Aquilegia canadensis L.	5000	20	4
Aquilegia chrysantha A. Gray	5000	20	4
Aquilegia ×cultorum Bergmans	5000	20	4
Aquilegia vulgaris L.	5000	20	4
Arabis alpina L.	5000	10	2
Arabis ×arendsii H. R. Wehrh.	5000	10	2
Arabis blepharophylla Hook. & Arn.	5000	10	2
Arabis caucasica Willd.	5000	10	2
Arabis procurrens Waldst. & Kit.	5000	10	2
Arabis scopoliana Boiss.	5000	10	2
Arctotis stoechadifolia P. J. Bergius	5000	20	4
Armeria maritima (Mill.) Willd.	5000	20	5
Artemisia absinthium L.	5000	5	0,5
Artemisia dracunculus L.	5000	5	0,5
Artemisia maritima L.	5000	5	0,5
Artemisia vulgaris L.	5000	5	0,5
Asclepias tuberosa L.	5000	130	13
Asparagus aethiopicus L. (anteriormente *Asparagus densiflorus* (Kunth) Jessop)	10000	200	60
Asparagus plumosus L. (anteriormente *Asparagus setaceus* (Kunth) Jessop)	10000	200	50
Aster alpinus L.	5000	20	5
Aster amellus L.	5000	20	5
Aster dumosus L.	5000	20	5
Aubrieta deltoidea (L.) DC. (incluye *A. graeca* Griseb.)	5000	5	1
Aurinia saxatilis (L.) Desv.	5000	10	3

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Bassia scoparia (L.) A. J. Scott (anteriormente *Kochia scoparia* (L.) Schrad.)	5000	10	3
Begonia Grupo Semperflorens-Cultorum	5000	5	0,1
Begonia ×tuberhybrida Voss	5000	5	0,1
Bellis perennis L.	5000	5	0,5
Brachyscome iberidifolia Benth.	5000	5	0,3
Briza maxima L.	5000	40	10
Browallia viscosa Kunth	5000	5	0,5
Brunnera macrophylla (Adams) I. M. Johnst.	5000	40	10
Calceolaria ×herbeohybrida Voss	5000	5	0,1
Calceolaria polyrrhiza Cav.	5000	5	0,1
Calendula officinalis L.	5000	80	20
Callistephus chinensis (L.) Nees	5000	20	6
Campanula carpatica Jacq.	5000	5	0,2
Campanula fragilis Cirillo	5000	5	1
Campanula garganica Ten.	5000	5	0,5
Campanula glomerata L.	5000	5	0,2
Campanula lactiflora M. Bieb.	5000	5	1
Campanula medium L.	5000	5	0,6
Campanula persicifolia L.	5000	5	0,2
Campanula portenschlagiana Schult.	5000	5	0,5
Campanula pyramidalis L.	5000	5	1
Campanula rapunculus L.	5000	5	1
Celosia argentea L.	5000	10	2
(*Centaurea americana* Nutt. véase *Plectocephalus americana* (Nutt.) D. Don)			
Centaurea benedicta (L.) L. (anteriormente *Cnicus benedictus* L.)	5000	300	75
Centaurea cyanus L.	5000	40	10
(*Centaurea dealbata* Willd. véase *Psephellus dealbatus* (Willd.) K. Koch)			
Centaurea gymnocarpa Moris & De Not.	5000	40	10
Centaurea imperialis Hausskn. ex Bornm.	5000	40	10
Centaurea macrocephala Muss. Puschk. ex Willd.	5000	40	10
Centaurea montana L.	5000	40	10
Centaurea ragusina L.	5000	40	10
Cerastium tomentosum L.	5000	10	2
Chelidonium majus L.	5000	5	1
Chrysanthemum indicum L.	5000	30	8
Clarkia amoena (Lehm.) A. Nelson & J. F. Macbr.	5000	5	1
Clarkia pulchella Pursh	5000	5	1
Clarkia unguiculata Lindl.	5000	5	1
Cleome hassleriana Chodat	5000	20	5
(*Cnicus benedictus* L. véase *Centaurea benedicta* (L.) L.)			
Cobaea scandens Cav.	5000	200	50
Coix lacryma-jobi L.	5000	600	150
Coleostephus multicaulis (Desf.) Durieu	5000	30	8
(*Coleus blumei* Benth. véase *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.)			
Consolida ajacis (L.) Schur	5000	30	8
Consolida regalis Gray	5000	30	8
Convolvulus tricolor L.	5000	100	25

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Coreopsis basalis (A. Dietr.) S. F. Blake (incluye *C. drummondii* (D. Don) Torr. & A. Gray)	5 000	20	5
Coreopsis lanceolata L.	5 000	20	5
Coreopsis maritima (Nutt.) Hook. f.	5 000	5	1
Coreopsis tinctoria Nutt.	5 000	5	1
Cosmos bipinnatus Cav.	5 000	80	20
Cosmos sulphureus Cav.	5 000	80	20
Cyclamen persicum Mill.	5 000	100	30
Cymbalaria muralis G. Gaertn. et al.	5 000	5	0,2
Cynoglossum amabile Stapf & J. R. Drumm.	5 000	40	10
Dahlia pinnata Cav.	5 000	80	20
Datura metel L.	5 000	100	25
Datura stramonium L.	5 000	100	25
Delphinium ×belladonna hort. ex Bergmans	5 000	20	4
Delphinium cardinale Hook.	5 000	20	4
Delphinium ×cultorum Voss	5 000	20	4
Delphinium formosum Boiss. & A. Huet	5 000	20	4
Delphinium grandiflorum L.	5 000	20	4
Dianthus barbatus L.	5 000	10	3
Dianthus caryophyllus L.	5 000	20	5
Dianthus chinensis L.	5 000	10	3
Dianthus deltoides L.	5 000	20	0,5
Dianthus plumarius L.	5 000	20	5
Digitalis lanata Ehrh.	5 000	5	1
Digitalis purpurea L.	5 000	5	0,2
Dimorphotheca pluvialis (L.) Moench	5 000	40	10
Dimorphotheca tragus (Aiton) B. Nord.	5 000	40	10
Doronicum orientale Hoffm.	5 000	10	2
Dorotheanthus bellidiformis (Burm. f.) N. E. Br.	5 000	5	0,5
Echinacea purpurea (L.) Moench	5 000	20	5
Echinops ritro L.	5 000	80	20
Echium candicans L. f.	5 000	40	10
Echium plantagineum L.	5 000	40	10
Erigeron speciosus (Lindl.) DC.	5 000	5	0,5
Erysimum cheiri (L.) Crantz	5 000	10	3
Erysimum ×marshallii (Henfr.) Bois	5 000	10	3
Eschscholzia californica Cham.	5 000	20	5
Fatsia japonica (Thunb.) Decne. & Planch.	5 000	60	15
Freesia refracta (Jacq.) Klatt	5 000	100	25
Gaillardia aristata Pursh	5 000	30	8
Gaillardia pulchella Foug.	5 000	20	6
Galega officinalis L.	5 000	80	20
Galeopsis segetum Neck.	5 000	20	4
Gazania rigens (L.) Gaertn.	5 000	20	5
Gentiana acaulis L.	5 000	5	0,7
Geranium, híbridos	5 000	40	10
Gerbera jamesonii Adlam	5 000	40	10
Geum coccineum Sm.	5 000	20	5
Geum quellyon Sweet	5 000	20	5
Gilia tricolor Benth.	5 000	5	1
Glandularia canadensis (L.) Nutt.	5 000	20	6
Glebionis carinata (Schousb.) Tzvelev	5 000	30	8

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Glebionis coronaria (L.) Cass. ex Spach	5000	30	8
Glebionis segetum (L.) Fourr.	5000	30	8
Gomphrena globosa L.	5000	40	10
Goniolimon tataricum (L.) Boiss.	5000	20	5
Grevillea robusta A. Cunn. ex R. Br.	5000	80	20
Gypsophila elegans M. Bieb.	5000	10	2
Gypsophila paniculata L.	5000	10	2
Gypsophila repens L.	5000	10	2
Helenium autumnale L.	5000	5	0,9
Helianthemum nummularium (L.) Mill.	5000	20	5
Helianthus debilis Nutt.	10000	150	40
(*Helichrysum bracteatum* (Vent.) Andrews véase *Xerochrysum bracteatum* (Vent.) Tzvelev)			
Heliopsis helianthoides (L.) Sweet	5000	40	10
Heliotropium arborescens L.	5000	5	1
(*Helipterum humboldtianum* (Gaudich.) DC. véase *Rhodanthe humboldtiana* (Gaudich.) Paul G. Wilson)			
(*Helipterum manglesii* (Lindl.) F. Muell. ex Benth. véase *Rhodanthe manglesii* Lindl.)			
(*Helipterum roseum* (Hook.) Benth. véase *Rhodanthe chlorocephala* (Turcz.) Paul G. Wilson)			
Hesperis matronalis L.	5000	20	5
Heteranthemis viscidehirta Schott	5000	30	8
Heuchera sanguinea Engelm.	5000	5	0,1
Hibiscus trionum L.	5000	40	10
Hippeastrum, híbridos	5000	80	20
Hypericum perforatum L.	5000	5	0,3
Hyssopus officinalis L.	5000	10	3
Iberis amara L.	5000	20	6
Iberis gibraltarica L.	5000	10	3
Iberis sempervirens L.	5000	10	3
Iberis umbellata L.	5000	10	3
Impatiens balsamina L.	5000	100	25
Impatiens walleriana Hook. f.	5000	10	2
Inula helenium L.	5000	20	4
Ipomoea alba L.	10000	400	100
Ipomoea purpurea (L.) Roth	10000	400	100
Ipomoea quamoclit L.	10000	200	50
Ipomoea tricolor Cav.	10000	400	100
Jacobaea maritima (L.) Pelser & Meijden (anteriormente *Senecio cineraria* DC.)	5000	5	0,5
Kalanchoe blossfeldiana Poelln.	5000	5	0,1
Kalanchoe crenata (Andrews) Haw.	5000	5	0,1
Kalanchoe globulifera H. Perrier	5000	5	0,1
Kniphofia uvaria (L.) Oken	5000	10	3
(*Kochia scoparia* (L.) Schrad. véase *Bassia scoparia* (L.) A. J. Scott)			
Lathyrus latifolius L.	10000	400	100
Lathyrus odoratus L.	10000	600	150
Lavandula angustifolia Mill.	5000	10	2
Lavatera trimestris L.	5000	40	10
Legousia speculum-veneris (L.) Chaix	5000	5	1

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Leontopodium nivale (Ten.) Hand.-Mazz. (anteriormente *Leontopodium alpinum* Cass.)	5 000	5	0,1
Leonurus cardiaca L.	5 000	10	2
Leucanthemum maximum (Ramond) DC.	5 000	20	5
Leucanthemum vulgare Lam.	5 000	20	5
Levisticum officinale W. D. J. Koch	5 000	30	8
Liatris pycnostachya Michx.	5 000	30	8
Liatris spicata (L.) Willd.	5 000	30	8
Lilium regale E. H. Wilson	5 000	40	10
Limonium bellidifolium (Gouan) Dumort.	5 000	20	5
Limonium bonduellei (T. Lestib.) Kuntze	5 000	200	50
Limonium gerberi Soldano	5 000	20	5
Limonium sinuatum (L.) Mill. (cabezas)	5 000	200	50
Limonium sinuatum (L.) Mill. (semillas)	5 000	20	6
Linaria bipartita (Vent.) Willd.	5 000	5	0,2
Linaria maroccana Hook. f.	5 000	5	0,4
Linaria vulgaris Mill.	5 000	5	0,2
Linum flavum L.	5 000	20	5
Linum grandiflorum Desf.	5 000	40	10
Linum narbonense L.	5 000	20	5
Linum perenne L.	5 000	20	5
Lobelia cardinalis L. (incluye *L. fulgens* Humb. & Bonpl. ex Willd.)	5 000	5	0,1
Lobelia erinus L.	5 000	5	0,2
Lobularia maritima (L.) Desv.	5 000	5	1
Lomelosia caucasica (M. Bieb.) Greuter & Burdet (anteriormente *Scabiosa caucasica* M. Bieb.)	5 000	80	20
Lonas annua (L.) Vines & Druce	5 000	5	0,6
Lunaria annua L.	5 000	80	20
Lupinus hartwegii Lindl.	10 000	200	60
Lupinus, hybrides	10 000	200	60
Lupinus nanus Douglas ex Benth.	10 000	200	60
Lupinus polyphyllus Lindl.	10 000	200	60
Malcolmia maritima (L.) R. Br.	5 000	10	3
Malope trifida Cav.	5 000	20	5
Marrubium vulgare L.	5 000	10	2
Matricaria chamomilla L. (anteriormente *Matricaria recutita* L.)	5 000	5	0,5
Matthiola incana (L.) R. Br.	5 000	20	4
Matthiola longipetala (Vent.) DC.	5 000	10	2
Melissa officinalis L.	5 000	10	2
Mentha ×piperita L.	5 000	5	0,5
Mimosa pudica L.	5 000	40	10
Mimulus cardinalis Douglas ex Benth.	5 000	5	0,2
Mimulus cupreus hort. ex Dombrain	5 000	5	0,2
Mimulus ×hybridus hort. ex Voss	5 000	5	0,2
Mimulus luteus L.	5 000	5	0,2
Mirabilis jalapa L.	10 000	800	200
Moluccella laevis L.	5 000	100	25
Myosotis, híbridos	5 000	10	2
Myosotis scorpioides L.	5 000	10	2
Myosotis sylvatica Hoffm.	5 000	10	2
Nemesia strumosa Benth.	5 000	5	1
Nemesia versicolor E. Mey. ex Benth.	5 000	5	1

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Nemophila maculata Benth. ex Lindl.	5 000	20	5
Nemophila menziesii Hook. & Arn.	5 000	20	5
Nepeta cataria L.	5 000	10	2
Nicotiana alata Link & Otto	5 000	5	0,2
Nicotiana ×sanderae W. Watson	5 000	5	0,2
Nicotiana suaveolens Lehm.	5 000	5	0,5
Nierembergia hippomanica Miers	5 000	5	0,5
Nigella damascena L.	5 000	20	6
Nigella hispanica L.	5 000	20	6
Nigella sativa L.	5 000	40	10
Oenothera macrocarpa Nutt.	5 000	40	10
Osteospermum ecklonis (DC.) Norl.	5 000	40	10
Papaver alpinum L.	5 000	5	0,5
Papaver glaucum Boiss. & Hausskn.	5 000	5	0,5
Papaver nudicaule L.	5 000	5	0,5
Papaver orientale L.	5 000	5	1
Papaver rhoeas L.	5 000	5	0,5
Pelargonium Groupe Zonale	5 000	80	20
Penstemon barbatus (Cav.) Roth	5 000	10	2
Penstemon hartwegii Benth.	5 000	10	2
Penstemon, híbridos	5 000	10	2
Pericallis cruenta (Masson ex L'Hér.) Bolle (anteriormente *Senecio cruentus* (Masson ex L'Hér.) DC.)	5 000	5	0,5
Perilla frutescens (L.) Britton	5 000	10	3
Petunia ×atkinsiana (Sweet) D. Don ex W. H. Baxter (anteriormente *Petunia ×hybrida* hort. ex E. Vilm.)	5 000	5	0,2
Phacelia campanularia A. Gray	5 000	10	2
Phlox drummondii Hook.	5 000	20	5
Phlox paniculata L.	5 000	20	5
Phlox subulata L.	5 000	20	5
Pholistoma auritum (Lindl.) Lilja	5 000	20	5
Physalis alkekengi L.	5 000	20	4
Pimpinella major (L.) Huds.	5 000	20	5
Pimpinella saxifraga L.	5 000	20	5
Plectocephalus americana (Nutt.) D. Don (anteriormente *Centaurea americana* Nutt.)	5 000	100	35
Plectranthus scutellarioides (L.) R. Br. (anteriormente *Coleus blumei* Benth.)	5 000	10	2
Portulaca grandiflora Hook.	5 000	5	0,3
Primula auricula L.	5 000	5	1
Primula denticulata Sm.	5 000	5	0,5
Primula elatior (L.) Hill	5 000	10	2
Primula japonica A. Gray	5 000	5	1
Primula ×kewensis W. Watson	5 000	5	0,5
Primula malacoides Franch.	5 000	5	0,5
Primula obconica Hance	5 000	5	0,5
Primula praenitens Ker Gawl.	5 000	5	1
Primula veris L.	5 000	5	1
Primula vulgaris Huds.	5 000	5	1
Psephellus dealbatus (Willd.) K. Koch (anteriormente *Centaurea dealbata* Willd.)	5 000	40	10
Psylliostachys suworowii (Regel) Roshkova	5 000	20	5
Ranunculus asiaticus L.	5 000	5	1

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Reseda odorata L.	5000	10	3
Rheum palmatum L.	5000	100	30
Rhodanthe humboldtiana (Gaudich.) Paul G. Wilson (anteriormente *Helipterum humboldtianum* (Gaudich.) DC.)	5000	30	8
Rhodanthe manglesii Lindl. (anteriormente *Helipterum manglesii* (Lindl.) F. Muell. ex Benth.)	5000	30	8
Rhodanthe chlorocephala (Turcz.) Paul G. Wilson (incluye *Helipterum roseum* (Hook.) Benth.)	5000	30	8
Rudbeckia fulgida Aiton	5000	10	2
Rudbeckia hirta L.	5000	5	1
Ruta graveolens L.	5000	20	6
Saintpaulia ionantha H. Wendl.	5000	5	0,1
Salpiglossis sinuata Ruiz & Pav.	5000	5	1
Salvia coccinea Buc'hoz ex Etl.	5000	30	8
Salvia farinacea Benth.	5000	20	5
Salvia officinalis L.	5000	30	20
Salvia patens Cav.	5000	30	8
Salvia pratensis L.	5000	30	8
Salvia sclarea L.	5000	80	20
Salvia splendens Sellow ex Schult.	5000	30	8
Salvia viridis L.	5000	20	5
Sanvitalia procumbens Lam.	5000	10	2
Saponaria calabrica Guss.	5000	20	5
Saponaria ocymoides L.	5000	20	5
Saponaria officinalis L.	5000	20	5
Scabiosa atropurpurea L.	5000	60	15
(*Scabiosa caucasica* M. Bieb. véase *Lomelosia caucasica* (M. Bieb.) Greuter & Burdet)			
Schefflera elegantissima (hort. Veitch ex Mast.) Lowry & Frodin	5000	20	6
Schizanthus pinnatus Ruiz & Pav.	5000	10	2
(*Senecio cineraria* DC. véase *Jacobaea maritima* (L.) Pelser & Meijden)			
(*Senecio cruentus* (Masson ex L'Hér.) DC. véase *Pericallis cruenta* (Masson ex L'Hér.) Bolle)			
Senecio elegans L.	5000	5	0,5
Silene chalcedonica (L.) E. H. L. Krause	5000	5	1
Silene coronaria (L.) Clairv.	5000	20	5
Silene pendula L.	5000	10	2
Silybum marianum (L.) Gaertn.	5000	200	50
Sinningia speciosa (Lodd. et al.) Hiern	5000	5	0,2
(*Solanum diflorum* Vell. véase *Solanum pseudocapsicum* L.)			
Solanum giganteum Jacq.	5000	20	5
Solanum laciniatum Aiton	5000	20	5
Solanum marginatum L. f.	5000	20	5
Solanum pseudocapsicum L. (anteriormente *Solanum diflorum* Vell.)	5000	20	5
Stachys macrantha (K. Koch) Stearn	5000	20	5
Tagetes erecta L.	5000	40	10
Tagetes patula L.	5000	40	10
Tagetes tenuifolia Cav.	5000	20	5
Tanacetum achilleifolium (M. Bieb.) Sch. Bip.	5000	30	8
Tanacetum cinerariifolium (Trevir.) Sch. Bip.	5000	10	3
Tanacetum coccineum (Willd.) Grierson	5000	30	8

Tabla 2A Parte 3. Peso de los lotes y de los muestreos: especies de flores, especias, hierbas y medicinales (continuación)

Especies	Peso máximo del lote (kg) (excepto véase 2.8 Nota. 2)	Peso mínimo de los lotes remitidos (g)	Peso mínimo de los lotes de trabajo por el análisis de la pureza (3.5.1) (g)
1	2	3	4
Tanacetum parthenium (L.) Sch. Bip.	5 000	20	5
Thunbergia alata Bojer ex Sims	5 000	200	50
Thymus serpyllum L.	5 000	5	0,5
Torenia fournieri Linden ex E. Fourn.	5 000	5	0,2
Tripleurospermum inodorum (L.) Sch. Bip. (anteriormente *Tripleurospermum perforatum* (Mérat) M. Laínz)	5 000	5	0,5
Tripleurospermum maritimum (L.) W. D. J. Koch	5 000	5	0,5
(*Tripleurospermum perforatum* (Mérat) M. Laínz véase *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.)			
Tropaeolum majus L.	10 000	1 000	350
Tropaeolum peltophorum Benth.	10 000	1 000	350
Tropaeolum peregrinum L.	10 000	1 000	350
Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert	5 000	20	5
Valeriana officinalis L.	5 000	10	2
Verbascum densiflorum Bertol.	5 000	5	0,3
Verbascum phlomoides L.	5 000	5	0,5
Verbascum thapsus L.	5 000	5	0,5
Verbena bonariensis L.	5 000	20	6
Verbena Hybrida Grupo	5 000	20	6
Verbena rigida Spreng.	5 000	10	2
Vinca minor L.	5 000	20	5
Viola cornuta L.	5 000	10	3
Viola odorata L.	5 000	10	3
Viola tricolor L.	5 000	10	3
Xeranthemum annuum L.	5 000	10	3
Xerochrysum bracteatum (Vent.) Tzvelev (anteriormente *Helichrysum bracteatum* (Vent.) Andrews)	5 000	10	2
Zinnia elegans Jacq.	5 000	80	20
Zinnia haageana Regel	5 000	20	6

Tabla 2B Parte 1. Tamaños de las muestras (número de semillas) para las semillas en pellets, las semillas incrustadas y semillas en gránulos

Determinaciones	Mínimo para la muestra remitida	Mínimo para la muestra de trabajo
Análisis de la pureza (incluye la verificación de la especie)	2 500	2 500
Determinación del peso	2 500	Fracción peletizada pura
Germinación	2 500	400
Determinación de otras semillas	10 000	7 500
Determinación de otras semillas (semillas incrustadas y semillas en gránulos)	25 000	25 000
Tamaño de trituración	5 000	1 000

Tabla 2B Parte 2. Tamaños de las muestras (número de semillas) para semillas en cintas y semillas en matas

Déterminaciones	Mínimo para la muestra remitida	Mínimo para la muestra de trabajo
Verificación de la especie	300	100
Germinación	2 000	400
Análisis de la pureza (si requirido)	2 500	2 500
Determinación de otras semillas	10 000	7 500

2.9 Pruebas de heterogeneidad de los lotes de semillas en varios contenedores

El objeto de las pruebas de heterogeneidad es detectar la presencia de heterogeneidad que hace que el lote de semillas sea técnicamente inaceptable para el muestreo, de acuerdo con el objeto tal como se define en el punto 2.1.

2.9.1 La prueba H de valor

2.9.1.1 Definiciones de los términos y símbolos

El análisis de heterogeneidad predominantemente en el rango de un atributo adoptado como indicador, implica una comparación entre la varianza observada y la varianza aceptable de ese atributo. Los contenedores-muestras de un lote de semillas son muestras extraídas independientemente una de la otra a partir de diferentes contenedores. Los exámenes de contenedores-muestras para el atributo indicado, también deben ser independientes entre sí. Dado que sólo hay una fuente de información para cada contenedor, la heterogeneidad dentro de los contenedores no está directamente involucrada. La variación aceptable se calcula multiplicando la variación teórica, causada por la variación aleatoria, con un factor *f* para la variación adicional, teniendo en cuenta el nivel de heterogeneidad que es realizable con las buenas prácticas de producción de semillas. La variación teórica puede calcularse a partir de las respectivas distribuciones de probabilidad, que es la distribución binomial en el caso de pureza y germinación y la distribución de Poisson en el caso del recuento de otras semillas.

No número de contenedores en el lote
N número de contenedores-muestras independientes
n número de semillas analizadas de cada contenedor-muestra (1 000 para la pureza, 100 para la germinación y 10 000 para el recuento de otras semillas, véase 2.9.1.3)
X resultado del análisis del atributo adoptado en un contenedor-muestra
$\sum$ símbolo para la suma de todos los valores
f factor de multiplicación de la variación teórica para obtener la variación aceptable (véase la Tabla 2C).

Media de todos los valores *X* determinados para el lote en relación con el atributo adoptado:

$$\overline{X} = \frac{\sum X}{N}$$

Variación aceptable para muestras-contenedores independientes en materia de pureza o porcentajes de germinación:

$$W = \frac{\overline{X} \cdot (100 - \overline{X})}{n} \cdot f$$

Variación aceptable para contenedores-muestras independientes con respecto a número de otras semillas:

$$W = \overline{X} \cdot f$$

Variación observada para contenedores-muestras independientes basada en todos los valores *X* en relación con el atributo adoptado:

$$V = \frac{N \sum X^2 - (\sum X)^2}{N(N-1)}$$

Valor de H:

$$H = \frac{V}{W} - f$$

Valores negativos de H se deben reportar como cero.

Tabla 2C. Factores que se deben utilizar para la variación adicional en lotes de semillas para el cálculo de W y, finalmente, del valor H

Atributos	Semillas no brozosas	Semillas brozosas
Pureza	1,1	1,2
Recuento de otras semillas	1,4	2,2
Germinación	1,1	1,2

Observaciones:
- Por pureza y germinación calcule con dos decimales si N es menor que 10 y al tercer decimal si N es 10 o más.
- Para el número de otras semillas, calcule con un decimal si N es menor que 10 y con dos decimales si N es 10 o más.
- Para la definición de las semillas no brozosas y brozosas ver 3.6.6 de las Reglas ISTA. La brozosidad de diversos géneros aparece en la Tabla 3B Parte 1.

Tabla 2D. Intensidad del muestreo y valores críticos de H. Número de contenedores-muestras independientes obtenibles dependiendo del número de contenedores del lote y valores críticos de H para la heterogeneidad del lote de semillas, con un nivel de significación del 1 % de probabilidad.

Número de contenedores en el lote	Número de muestras de contenedores independientes	Valor crítico de H para los atributos pureza y germinación		Valor crítico de H para atributos de conteo de otras semillas	
		Semillas no brozosas	Semillas brozosas	Semillas no brozosas	Semillas brozosas
5	5	2,55	2,78	3,25	5,10
6	6	2,22	2,42	2,83	4,44
7	7	1,98	2,17	2,52	3,98
8	8	1,80	1,97	2,30	3,61
9	9	1,66	1,81	2,11	3,32
10	10	1,55	1,69	1,97	3,10
11–15	11	1,45	1,58	1,85	2,90
16–25	15	1,19	1,31	1,51	2,40
26–35	17	1,10	1,20	1,40	2,20
36–49	18	1,07	1,16	1,36	2,13
50 o más	20	0,99	1,09	1,26	2,00

2.9.1.2 Muestreo del lote

El número de contenedores-muestras independientes no debe ser menor que el enumerado en la Tabla 2D.

La intensidad del muestreo ha sido elegida de tal manera que en un lote que contiene aproximadamente un 10% de contenedores desviantes, se selecciona al menos un recipiente desviado con una probabilidad de p = 90 %. Dado que la detección de un recipiente desviado condiciona la selección, el poder de las dos pruebas para detectar la heterogeneidad, es en el mejor de los casos cerca de la igualdad, pero por lo general menor que la probabilidad de selección elegida (Referencia: Steiner, A.M. y Meyer, U. (1990). H-value and R-value heterogeneity testing of seed lots; properties, sampling intensity and precision. *Agribiological Research,* **43**, 103-114).

Los contenedores para el muestreo son elegidos estrictamente al azar. La muestra tomada del contenedor debe representar adecuadamente todo el contenido, por ejemplo la parte superior, media e inferior de una bolsa. El peso de cada contenedor-muestra no debe ser menor de la mitad especificada en la Tabla 2A, columna 3.

2.9.1.3 Procedimientos para el análisis

El atributo adoptado para indicar la heterogeneidad puede ser:

a) porcentaje en peso de cualquier componente de la pureza;
b) porcentaje de cualquier componente de la prueba de germinación, o
c) el número total de semillas o el número de cualquier síngula especie en la determinación de otras semillas por número.

En el laboratorio se extrae de cada contenedor-muestra una muestra de trabajo y la se analiza, independientemente de cualquier otra muestra, para el atributo seleccionado.

a) Se puede utilizar el porcentaje en peso de cualquier componente, siempre que pueda ser separado como en el análisis de pureza, por ejemplo semillas puras, otras semillas o semillas vacías de hierbas. La muestra de trabajo debe ser de tal peso que se estime contenga 1000 semillas contadas en cada contenedor-muestra. Cada muestra de trabajo se separa en dos fracciones: el componente seleccionado y el resto.
b) Se puede utilizar cualquier tipo de semilla o plántula que sea determinable en una prueba de germinación estándar, por ejemplo plántulas normales, anormales o semillas duras. De cada contenedor-muestra se configura de forma simultánea una prueba de germinación de 100 semillas y completada de acuerdo con las condiciones especificadas en la Tabla 5A.
c) El recuento de semillas puede ser de cualquier especie singular en que se pueda contar, por ejemplo una especie de semillas especificada o todas las otras semillas juntas. Cada muestra de trabajo debe ser de un peso estimado para contener alrededor de 10 000 semillas y se hace un recuento en ella del número de semillas de la especie seleccionada (es decir, otro recuento de las semillas).

2.9.1.4 Uso de la Tabla 2D

La Tabla 2D muestra los valores de H críticos que exceden en sólo el 1% de las pruebas de los lotes de semillas, con una distribución aceptable del atributo adoptado como indicador. Si el valor H calculado supera el valor H crítico perteneciente al número de muestra N, del atributo y de la brozosidad en la Tabla 2D, entonces se considera que el lote muestre una heterogeneidad significativa en el intervalo, o, posiblemente, también un sentido de fuera de rango. Si, sin embargo, el valor H calculado es menor o igual que el valor H crítico tabulado, entonces se considera que el lote no muestra una heterogeneidad en el intervalo, o posiblemente fuera del rango con respecto al atributo que se está probando.

2.9.1.5 Indicación de los resultados

El resultado del ensayo del valor H de heterogeneidad de los lotes de semillas en varios contenedores, debe ser reportados bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, de la siguiente manera:

- $\overline{X}$: media de todos los valores *X* determinados para el lote en relación con el atributo adoptado;
- N: número de muestras de contenedores independientes;
- No: número de recipientes del lote;
- el valor H calculado;
- la declaración: "Este valor de H indica/no indica heterogeneidad significativa).

Nota: el valor H no se debe calcular o reportar si $\overline{X}$ está fuera de los límites siguientes:

- componentes de la pureza: por encima de 99.8 % o por debajo de 0.2 %;
- germinación: por encima de 99.0 % o por debajo de 1.0 %;
- número de semillas especificadas: debajo del 2 % por muestra.

2.9.2 Análisis del valor R

El objeto de este análisis es detectar la heterogeneidad fuera de rango del lote de semillas mediante el atributo adoptado como indicador. La prueba de la heterogeneidad fuera de rango implica comparar la máxima diferencia encontrada entre muestras de tamaño similares extraídas del lote con un rango de tolerancia. Este rango tolerado se basa en la desviación estándar aceptable, lo que se puede lograr con la buena práctica de producción de semillas.

Cada contenedor-muestra independiente se toma de un recipiente diferente, por lo que la heterogeneidad dentro de los contenedores no está directamente implicada. Información sobre la heterogeneidad dentro de los contenedores está contenida, sin embargo, en la desviación estándar aceptable que está, de hecho, incorporada en la tabulación de los rangos tolerados. En el caso de pureza y germinación la desviación estándar aceptable ha sido calculada por la desviación estándar debido a la variación aleatoria de acuerdo con la distribución binomial y con la distribución de Poisson en el caso del recuento de otras semillas, multiplicado por la raíz cuadrada del factor f dada en la Tabla 2C, respectivamente. El diferencial entre los contenedores se caracteriza por el rango calculado para ser comparado con el rango tolerado correspondiente.

2.9.2.1 Definiciones de los términos y símbolos

No número de contenedores en el lote
N número de contenedores-muestras independientes
n número de semillas analizadas de cada contenedor-muestra (1 000 para la pureza, 100 para la germinación y 10 000 para el recuento de otras semillas, véase 2.9.1.3)
X resultado del análisis del atributo adoptado en un contenedor-muestra
$\sum$ símbolo para la suma de todos los valores

La media de todos los valores *X* determinados para el lote, en relación con el atributo adoptado:

$$\overline{X} = \frac{\sum X}{N}$$

Rango encontrado como máxima diferencia entre contenedores-muestras independientes del lote, en relación con el atributo adoptado:

$R = X_{max} - X_{min}$

Nota: por la precisión de *X* para el análisis del valor R, véase 2.9.1.1 "Observaciones" al análisis del valor H.

2.9.2.2 Muestreo del lote

La toma de muestras para la prueba del valor R es la misma que para la prueba del valor H (véase 2.9.1.2); se deben utilizar las mismas muestras.

2.9.2.3 Procedimientos de análisis

Los mismos procedimientos de prueba de pureza, de germinación y de recuento de otras semillas utilizados para la prueba del valor R, se utilizan para la prueba del valor H (véase 2.9.1.3). Para los cálculos, se debe utilizar el mismo conjunto de datos.

2.9.2.4 Uso de las tablas

El lote de semillas con heterogeneidad fuera del rango se analiza mediante el uso de la tabla apropiada para tolerados, es decir, intervalo crítico:
- Tabla 2E para componentes de análisis de semilla pura;
- Tabla 2F para determinaciones de germinación, y
- Tabla 2G para números de otras semillas.

Encuentre el valor de $\overline{X}$ en las columnas de "promedio" de la tabla correspondiente. Al entrar en la tabla, redondee los promedios siguiendo los procedimientos habituales; lea el rango tolerado qué haya superado sólo el 1 % de los análisis de los lotes de semillas, con una distribución aceptable del atributo:
- en columnas 5-9 para casos cuando N = 5 hasta 9;
- en columnas 10-19 para casos cuando N = 10 hasta 19, o
- en columna 20 cuando N = 20.

Si el valor de R calculado excede este rango tolerado, entonces el lote se considera que muestra una heterogeneidad significativa, en el sentido fuera de rango. Si, sin embargo, el valor de R calculado es inferior o igual al rango tolerado tabulado, entonces el lote se considera que no muestra heterogeneidad en el sentido fuera de rango, con respecto al atributo que se está probando.
Al utilizar las tablas, redondee los promedios al siguiente valor tabulado (si está en el centro y luego hacia abajo).

2.9.2.5 Indicación de los resultados

El resultado del análisis de heterogeneidad del valor R de lotes de semillas en varios contenedores debe ser reportado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, como sigue:
- $\overline{X}$: promedio de todos los valores X determinados para el lote en relación con el atributo adoptado;
- N: número de contenedores-muestras independientes;
- No: número de contenedores en el lote;
- el valor R calculado;
- la declaración: "Este valor de R indica/no indica heterogeneidad significativa).

2.9.3 Interpretación de los resultados

Siempre que cualquiera de las dos pruebas, la prueba de valor H o la prueba de valor R, indique heterogeneidad significativa, entonces el lote debe ser declarado heterogéneo. Cuando, sin embargo, ninguna de las dos pruebas indica heterogeneidad significativa, el lote debe ser adoptado como no heterogéneo, con un nivel no significativo de heterogeneidad.

Tabla 2E Parte 1. Rangos máximos tolerados para la prueba del valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad utilizando componentes del análisis de pureza como atributo indicador en semillas no brozosas

Promedio % del componente y su complemento		Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
		5–9	10–19	20
99,9	0,1	0,5	0,5	0,6
99,8	0,2	0,7	0,8	0,8
99,7	0,3	0,8	0,9	1,0
99,6	0,4	1,0	1,1	1,2
99,5	0,5	1,1	1,2	1,3
99,4	0,6	1,2	1,3	1,4
99,3	0,7	1,3	1,4	1,6
99,2	0,8	1,4	1,5	1,7
99,1	0,9	1,4	1,6	1,8
99,0	1,0	1,5	1,7	1,9
98,5	1,5	1,9	2,1	2,3
98,0	2,0	2,1	2,4	2,6
97,5	2,5	2,4	2,7	2,9
97,0	3,0	2,6	2,9	3,2
96,5	3,5	2,8	3,1	3,4
96,0	4,0	3,0	3,4	3,7
95,5	4,5	3,2	3,5	3,9
95,0	5,0	3,3	3,7	4,1
94,0	6,0	3,6	4,1	4,5
93,0	7,0	3,9	4,4	4,8
92,0	8,0	4,1	4,6	5,1
91,0	9,0	4,4	4,9	5,4
90,0	10,0	4,6	5,1	5,6
89,0	11,0	4,8	5,4	5,9
88,0	12,0	5,0	5,6	6,1
87,0	13,0	5,1	5,8	6,3
86,0	14,0	5,3	5,9	6,5
85,0	15,0	5,4	6,1	6,7
84,0	16,0	5,6	6,3	6,9
83,0	17,0	5,7	6,4	7,0
82,0	18,0	5,9	6,6	7,2
81,0	19,0	6,0	6,7	7,4
80,0	20,0	6,1	6,8	7,5
78,0	22,0	6,3	7,1	7,8
76,0	24,0	6,5	7,3	8,0
74,0	26,0	6,7	7,5	8,2
72,0	28,0	6,9	7,7	8,4
70,0	30,0	7,0	7,8	8,6
68,0	32,0	7,1	8,0	8,7
66,0	34,0	7,2	8,1	8,9
64,0	36,0	7,3	8,2	9,0
62,0	38,0	7,4	8,3	9,1
60,0	40,0	7,5	8,4	9,2
58,0	42,0	7,5	8,4	9,2
56,0	44,0	7,6	8,5	9,3
54,0	46,0	7,6	8,5	9,3
52,0	48,0	7,6	8,6	9,4
50,0	50,0	7,6	8,6	9,4

Tabla 2E Parte 2. Rangos máximos tolerados para la prueba del valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad utilizando componentes del análisis de pureza como atributo indicador en semillas brozosas

Promedio % del componente y su complemento		Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
		5–9	10–19	20
99,9	0,1	0,5	0,6	0,6
99,8	0,2	0,7	0,8	0,9
99,7	0,3	0,9	1,0	1,1
99,6	0,4	1,0	1,1	1,2
99,5	0,5	1,1	1,3	1,4
99,4	0,6	1,2	1,4	1,5
99,3	0,7	1,3	1,5	1,6
99,2	0,8	1,4	1,6	1,7
99,1	0,9	1,5	1,7	1,8
99,0	1,0	1,6	1,8	1,9
98,5	1,5	1,9	2,2	2,4
98,0	2,0	2,2	2,5	2,7
97,5	2,5	2,5	2,8	3,1
97,0	3,0	2,7	3,0	3,3
96,5	3,5	2,9	3,3	3,6
96,0	4,0	3,1	3,5	3,8
95,5	4,5	3,3	3,7	4,1
95,0	5,0	3,5	3,9	4,3
94,0	6,0	3,8	4,2	4,6
93,0	7,0	4,1	4,6	5,0
92,0	8,0	4,3	4,8	5,3
91,0	9,0	4,6	5,1	5,6
90,0	10,0	4,8	5,4	5,9
89,0	11,0	5,0	5,6	6,1
88,0	12,0	5,2	5,8	6,4
87,0	13,0	5,4	6,0	6,6
86,0	14,0	5,5	6,2	6,8
85,0	15,0	5,7	6,4	7,0
84,0	16,0	5,8	6,6	7,2
83,0	17,0	6,0	6,7	7,4
82,0	18,0	6,1	6,9	7,5
81,0	19,0	6,3	7,0	7,7
80,0	20,0	6,4	7,1	7,8
78,0	22,0	6,6	7,4	8,1
76,0	24,0	6,8	7,6	8,4
74,0	26,0	7,0	7,8	8,6
72,0	28,0	7,2	8,0	8,8
70,0	30,0	7,3	8,2	9,0
68,0	32,0	7,4	8,3	9,1
66,0	34,0	7,5	8,5	9,3
64,0	36,0	7,6	8,6	9,4
62,0	38,0	7,7	8,7	9,5
60,0	40,0	7,8	8,8	9,6
58,0	42,0	7,9	8,8	9,7
56,0	44,0	7,9	8,9	9,7
54,0	46,0	7,9	8,9	9,8
52,0	48,0	8,0	8,9	9,8
50,0	50,0	8,0	8,9	9,8

Tabla 2F Parte 1. Rangos máximos tolerados para la prueba del valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad utilizando componentes del análisis de pureza como atributo indicador en semillas no brozosas

Promedio % del componente y su complemento		Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
		5–9	10–19	20
99	1	5	6	6
98	2	7	8	9
97	3	9	10	11
96	4	10	11	12
95	5	11	12	13
94	6	12	13	15
93	7	13	14	16
92	8	14	15	17
91	9	14	16	17
90	10	15	17	18
89	11	16	17	19
88	12	16	18	20
87	13	17	19	20
86	14	17	19	21
85	15	18	20	22
84	16	18	20	22
83	17	19	21	23
82	18	19	21	23
81	19	19	22	24
80	20	20	22	24
79	21	20	23	25
78	22	20	23	25
77	23	21	23	25
76	24	21	24	26
75	25	21	24	26
74	26	22	24	26
73	27	22	25	27
72	28	22	25	27
71	29	22	25	27
70	30	23	25	28
69	31	23	26	28
68	32	23	26	28
67	33	23	26	28
66	34	23	26	29
65	35	24	26	29
64	36	24	26	29
63	37	24	27	29
62	38	24	27	29
61	39	24	27	29
60	40	24	27	30
59	41	24	27	30
58	42	24	27	30
57	43	24	27	30
56	44	24	27	30
55	45	25	27	30
54	46	25	27	30
53	47	25	28	30
52	48	25	28	30
51	49	25	28	30
50	50	25	28	30

Tabla 2F Parte 2. Rangos máximos tolerados para la prueba del valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad utilizando componentes del análisis de pureza como atributo indicador en semillas brozosas

Promedio % del componente y su complemento		Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
		5–9	10–19	20
99	1	6	6	7
98	2	8	8	9
97	3	9	10	11
96	4	10	12	13
95	5	11	13	14
94	6	12	14	15
93	7	13	15	16
92	8	14	16	17
91	9	15	17	18
90	10	16	17	19
89	11	16	18	20
88	12	17	19	21
87	13	17	20	21
86	14	18	20	22
85	15	18	21	23
84	16	19	21	23
83	17	19	22	24
82	18	20	22	24
81	19	20	23	25
80	20	21	23	25
79	21	21	24	26
78	22	21	24	26
77	23	22	24	27
76	24	22	25	27
75	25	22	25	27
74	26	23	25	28
73	27	23	26	28
72	28	23	26	28
71	29	23	26	29
70	30	24	26	29
69	31	24	27	29
68	32	24	27	29
67	33	24	27	30
66	34	24	27	30
65	35	25	27	30
64	36	25	28	30
63	37	25	28	30
62	38	25	28	31
61	39	25	28	31
60	40	25	28	31
59	41	25	28	31
58	42	25	28	31
57	43	25	28	31
56	44	26	29	31
55	45	26	29	31
54	46	26	29	31
53	47	26	29	31
52	48	26	29	31
51	49	26	29	31
50	50	26	29	31

Tabla 2G Parte 1. Rangos máximos tolerados para la prueba de valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad usando componentes del análisis del recuento de otras semillas como atributo indicador en semillas no brozosas

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
1	6	7	7
2	8	9	10
3	10	11	12
4	11	13	14
5	13	14	15
6	14	15	17
7	15	17	18
8	16	18	19
9	17	19	21
10	18	20	22
11	19	21	23
12	19	22	24
13	20	23	25
14	21	23	26
15	22	24	26
16	22	25	27
17	23	26	28
18	24	26	29
19	24	27	30
20	25	28	30
21	25	28	31
22	26	29	32
23	27	30	33
24	27	30	33
25	28	31	34
26	28	32	35
27	29	32	35
28	29	33	36
29	30	33	37
30	30	34	37
31	31	34	38
32	31	35	38
33	32	36	39
34	32	36	39
35	33	37	40
36	33	37	41
37	34	38	41
38	34	38	42
39	34	39	42
40	35	39	43
41	35	40	43
42	36	40	44
43	36	41	44
44	37	41	45
45	37	41	45
46	37	42	46
47	38	42	46
48	38	43	47
49	39	43	47
50	39	44	48

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
51	39	44	48
52	40	45	49
53	40	45	49
54	40	45	50
55	41	46	50
56	41	46	51
57	42	47	51
58	42	47	51
59	42	47	52
60	43	48	52
61	43	48	53
62	43	49	53
63	44	49	54
64	44	49	54
65	44	50	54
66	45	50	55
67	45	50	55
68	45	51	56
69	46	51	56
70	46	52	56
71	46	52	57
72	47	52	57
73	47	53	58
74	47	53	58
75	48	53	58
76	48	54	59
77	48	54	59
78	49	54	60
79	49	55	60
80	49	55	60
81	49	55	61
82	50	56	61
83	50	56	61
84	50	56	62
85	51	57	62
86	51	57	62
87	51	57	63
88	52	58	63
89	52	58	64
90	52	58	64
91	52	59	64
92	53	59	65
93	53	59	65
94	53	60	65
95	54	60	66
96	54	60	66
97	54	61	66
98	54	61	67
99	55	61	67
100	55	62	67

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
101	55	62	68
102	55	62	68
103	56	62	68
104	56	63	69
105	56	63	69
106	57	63	69
107	57	64	70
108	57	64	70
109	57	64	70
110	58	65	71
111	58	65	71
112	58	65	71
113	58	65	72
114	59	66	72
115	59	66	72
116	59	66	73
117	59	67	73
118	60	67	73
119	60	67	73
120	60	67	74
121	60	68	74
122	61	68	74
123	61	68	75
124	61	68	75
125	61	69	75
126	62	69	76
127	62	69	76
128	62	70	76
129	62	70	76
130	63	70	77
131	63	70	77
132	63	71	77
133	63	71	78
134	64	71	78
135	64	71	78
136	64	72	78
137	64	72	79
138	64	72	79

Tabla 2G Parte 2. Rangos máximos tolerados para la prueba de valor R con un nivel de significación del 1 % de probabilidad usando componentes del análisis del recuento de otras semillas como atributo indicador en semillas no brozosas

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
1	7	8	9
2	10	11	12
3	12	14	15
4	14	16	17
5	16	18	19
6	17	19	21
7	19	21	23
8	20	22	24
9	21	23	26
10	22	25	27
11	23	26	28
12	24	27	30
13	25	28	31
14	26	29	32
15	27	30	33
16	28	31	34
17	29	32	35
18	29	33	36
19	30	34	37
20	31	35	38
21	32	36	39
22	33	36	40
23	33	37	41
24	34	38	42
25	35	39	42
26	35	40	43
27	36	40	44
28	37	41	45
29	37	42	46
30	38	42	46
31	38	43	47
32	39	44	48
33	40	44	49
34	40	45	49
35	41	46	50
36	41	46	51
37	42	47	51
38	43	48	52
39	43	48	53
40	44	49	54
41	44	50	54
42	45	50	55
43	45	51	55
44	46	51	56
45	46	52	57
46	47	52	57
47	47	53	58
48	48	54	59
49	48	54	59
50	49	55	60

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
51	49	55	60
52	50	56	61
53	50	56	62
54	51	57	62
55	51	57	63
56	52	58	63
57	52	58	64
58	52	59	64
59	53	59	65
60	53	60	65
61	54	60	66
62	54	61	66
63	55	61	67
64	55	62	68
65	56	62	68
66	56	63	69
67	56	63	69
68	57	64	70
69	57	64	70
70	58	65	71
71	58	65	71
72	58	65	72
73	59	66	72
74	59	66	73
75	60	67	73
76	60	67	74
77	60	68	74
78	61	68	75
79	61	69	75
80	62	69	75
81	62	69	76
82	62	70	76
83	63	70	77
84	63	71	77
85	63	71	78
86	64	71	78
87	64	72	79
88	65	72	79
89	65	73	80
90	65	73	80
91	66	74	80
92	66	74	81
93	66	74	81
94	67	75	82
95	67	75	82
96	67	75	83
97	68	76	83
98	68	76	83
99	68	77	84
100	69	77	84

Recuento medio de otras semillas	Rango tolerado para el número de muestras independientes (N)		
	5–9	10–19	20
101	69	77	85
102	69	78	85
103	70	78	86
104	70	79	86
105	70	79	86
106	71	79	87
107	71	80	87
108	71	80	88
109	72	80	88
110	72	81	88
111	72	81	89
112	73	81	89
113	73	82	90
114	73	82	90
115	74	83	90
116	74	83	91
117	74	83	91
118	75	84	92
119	75	84	92
120	75	84	92
121	76	85	93
122	76	85	93
123	76	85	93
124	76	86	94
125	77	86	94
126	77	86	95
127	77	87	95
128	78	87	95
129	78	87	96
130	78	88	96
131	79	88	96
132	79	88	97
133	79	89	97
134	79	89	98
135	80	89	98
136	80	90	98
137	80	90	99
138	81	90	99

Capítulo 3: El análisis de la pureza

3.1 Objeto

El objeto del análisis de la pureza es determinar:
a) la composición porcentual pesando la muestra que se está analizando y, por deducción, la composición del lote de semillas;
b) la identidad de las diversas especies de semillas y partículas inertes que constituyen la muestra.

3.2 Definiciones

3.2.1 Semilla pura

La semilla pura debe referirse a las especies indicadas por el solicitante, o que predominan en la prueba y debe incluir todas las variedades y cultivos botánicos de esa especie, incluyendo:
1. Las siguientes estructuras (aunque inmaduras, de tamaños insuficientes, arrugadas, enfermas o germinadas, siempre que puedan definitivamente ser identificadas como de esa especie) a menos que sean transformadas en esclerocios visibles de hongos (véase 3.5.2.5.1 para las excepciones cuando se utilice el método de soplado uniforme), bolas del hongo *Ustilago* o agallas de nemátodos:
   1. Unidades de semillas intactas (= comúnmente unidades de dispersión encontradas, es decir aquenios y frutos similares, schizocarps, floretes etc.) definidas para cada género o especie en las Definiciones de Semillas Puras (DSPs) en la Tabla 3B Parte 2.
      En *Poaceae*:
      a) floretes con una cariópside evidente, contenente endospermo;
      b) cariópsides libres.
   2. Trozos de semillas más grandes de la mitad de su tamaño original.
2. A partir de los principios fundamentales mencionados arriba, se hacen excepciones para ciertos géneros de *Poaceae* (Tabla 3B Parte 2):
   a) se requiere un tamaño mínimo de cariópside (3.5.2.2);
   b) no siempre es obligatoria la presencia de cariópsides en espiguillas y florecillas;
   c) la separación de las semillas puras y materia inerte se lleva a cabo mediante un procedimiento de soplado uniforme (véase 3.5.2.5);
   d) se dejan intactas las unidades de semillas múltiples (USM) en la fracción de semilla pura;
   e) no se quitan las florecillas estériles adjuntas (3.5.2.2);
   f) se dejan en la semilla ciertos apéndices de géneros, pero reportados de acuerdo con 3.5.2.8.

3.2.2 Otras semillas

Otras semillas deben incluir unidades de semillas de cualquier especie vegetal, excepto las de semilla pura. Con respecto a la clasificación como otras semillas o materia inerte también deben ser aplicables las características distintivas descritas en las definiciones de semillas puras (Tabla 3B Parte 2), excepto que:
1. Unidades de semillas de las especies para las que se aplica un procedimiento de soplado uniforme, se evaluan sin soplar.
2. Las unidades de semillas múltiples (USM) deben ser separadas y las unidades individuales ser clasificadas de acuerdo con los principios generales en 3.2.
3. *Cuscuta* spp. unidades de semillas que son frágiles o gris ceniciento de color blanco cremoso, se clasifican como materia inerte.

Para las especies y géneros sin definiciones de semillas puras en la Tabla 3B Parte 2, se deben aplicar las definiciones en 3.2.1. Se abren las estructuras múltiples, las cápsulas, las vainas y se quitan las semillas y el material que no es semilla se coloca en la materia inerte, a excepción de ciertas especies o géneros, como se indica en las Definiciones de Semilla Pura (Tabla 3B Parte 2).

3.2.3 Materia inerte

La materia inerte debe incluir unidades de semillas y los demás elementos y estructuras no definidas como semilla pura u otra semilla de la siguiente manera:
1. Unidades de semillas en las que es evidente que no hay una verdadera semilla presente.
2. Floretes de aquellas especies que figuran en 3.5.2.2 con una cariópside menor que el tamaño mínimo establecido. Florecillas estériles unidas a un florete fértil han de ser retiradas, excepto en ciertos géneros enumerado en 3.5.2.2.
3. Piezas rotas o unidades de semillas medio dañadas o menos de la mitad de su tamaño original.
4. Apéndices no clasificados como siendo parte de la semilla pura en las definiciones de semillas puras para la especie (Tabla 3B Parte 2). Apéndices que no se mencionan en las definiciones de semillas puras deben ser removidos e incluidos en la materia inerte.
5. Semillas de *Berberidaceae, Brassicaceae, Cupressaceae, Fabaceae, Pinaceae, Taxaceae* y *Taxodiaceae* con la cubierta de la semilla totalmente eliminada.
   En las *Fabaceae*, se considera como materia inerte los cotiledones separados, independientemente de si o no el

eje-radicula plúmula y/o más de la mitad de la cubierta de la semilla están juntos.

6. Semillas de *Cuscuta* spp. que son frágiles o de color de gris ceniza a blanco cremoso.
7. Floretes estériles libres, glumas vacías, lemas, páleas, paja, tallos, hojas, escamas de las piñas, alas, cortezas, flores, agallas de nemátodos, organismos de hongos tales como ergot, esclerocios y bolas del hongo *Ustilago*, tierra, arena, piedras y todo lo demás que no sea semilla.
8. Todo el material que queda en la fracción ligera cuando la separación se realiza por el método de soplado uniforme (3.5.2.5), excepto otras semillas (como definido en 3.2.2).

   En la fracción pesada, floretes rotos y mitad cariópsides o menos de la mitad del tamaño original, y todas las demás materias, excepto las semillas puras (3.2.1) y otras semillas (3.2.2).

3.3 Principios generales

La muestra de trabajo se divide en los tres componentes siguientes: semillas puras, otras semillas, materia inerte y el porcentaje de cada parte está determinado por el peso. Todas las especies de semillas y cada tipo de materia inerte presente deben ser identificados como medida de lo posible y, si se requiere para el reportaje, se deben determinar sus porcentajes en peso.

3.4 Aparatos

Se pueden utilizar, en la separación de la muestra de trabajo en sus partes componentes, ayudas tales como lupas, luz reflejada, tamices y sopladores.

3.4.1 Lupas, luz refleja y tamices

Lupas y microscopios binoculares son muy a menudo las ayudas necesarias para una correcta identificación y separación de las unidades de semillas pequeñas y fragmentos.

La luz reflejada es muy útil para la separación en las gramíneas de los floretes estériles de los fértiles y también puede ser utilizada para la detección de agallas de nemátodos y organismos fúngicos.

Pueden ser utilizados tamices como ayuda para el análisis de pureza en la muestra de trabajo para la separación de basura, suelo y otras partículas pequeñas.

3.4.2 Sopladores de semilla

Los sopladores de semillas pueden ser utilizados para separar de las semillas más pesadas de todas las especies material ligero como paja y floretes vacíos como un instrumento para el análisis de la pureza.

Los sopladores que dan las más precisas separaciones, normalmente manejan sólo pequeñas muestras (hasta 5 g). Un buen soplador debe proporcionar un flujo uniforme de aire, ser capaz de normalización y de retener todas las partículas que se separen.

Para ciertas especies y variedades de *Poaceae*, los sopladores de semillas para separar material ligero como la paja y los floretes vacíos de las semillas más pesadas, deben ser utilizados por el método de soplado uniforme (3.5.2.5).

Con el fin de mantener un flujo uniforme de aire, el soplador debería tener una o más cámaras de compresión de aire y un ventilador accionado por un motor de velocidad uniforme. El diámetro del tubo de soplado debe estar en proporción con el tamaño de la muestra de trabajo y el tubo debe ser lo suficientemente largo para permitir una separación satisfactoria de la muestra. La válvula o la puerta de ventilación que regula el flujo de aire debe ser capaz de un ajuste preciso, se debe calibrar y marcar para permitir una fácil lectura y su construcción y ubicación debe evitar zonas de corrientes fuertes y débiles en el tubo de soplado.

Un soplador de semilla para ser utilizado para el método de soplado uniforme debe ser capaz de:

a) soplar a diferentes velocidades de aire (determinadas por el uso de las muestras de calibración) para adaptarse a las diferentes especies;
b) mantener un flujo uniforme del aire a la velocidad requerida por las especies cultivables sometidas al análisis;
c) rápido ajuste a cualquier velocidad posible que se requiera. El ajuste para proporcionar a cada velocidad debe ser revisado anualmente por soplado de una muestra de calibración emitido bajo la autoridad de la ISTA;
d) ajuste preciso del tiempo.

3.4.2.1 Calibración del soplador de semillas

Las aberturas de las puertas del ventilación y el valor equivalente de la velocidad del aire (VAE) (véase 3.4.2.2) del mejor punto de soplado para un soplador de semillas de tipo general, se determinan mediante el uso de las muestras de calibración uniformes. Muestras de calibración se emiten bajo la autoridad de la ISTA y están disponibles para *Dactylis glomerata* y *Poa pratensis*. Antes de la calibración, las muestras de calibración deben estar expuestas durante la noche a condiciones ambientales.

Para aquellos que no tienen un soplador de semillas de tipo general, por favor póngase en contacto con la Secretaría ISTA.

La apertura de la puerta de ventilación para las variedades de *Poa pratensis* listadas en la Tabla 3A, con un peso promedio de mil semillas de menos de 0,35 g y por *Poa trivialis*, se obtiene multiplicando el valor de la configuración de la puerta de ventilación para *Poa pratensis* por 0,82 (sólo se aplica para sopladores de semillas de tipo general).

3.4.2.2 Determinación de la velocidad del aire equivalente

Cuando un soplador de semillas de tipo general ha sido calibrado de acuerdo con 3.4.2.1, debe medirse el VAE de la apertura de la puerta de aire utilizando un anemómetro. El siguiente procedimiento debe ser utilizado:

1. Ajuste el ventilador en el punto de soplado óptimo, es decir, con la apertura de la puerta de ventilación, obtenida con la muestra de calibración uniforme ISTA para la especie correspondiente, por ejemplo *Dactylis glomerata* o *Poa pratensis*. No cambie la apertura de la puerta de ventilación.
2. Retire la taza de la muestra desde el portavasos, inserte el anemómetro con pantalla digital hacia arriba y alinee el ventilador del anemómetro sobre la abertura del ventilador donde fluye el aire de la cámara en el portavasos de la muestra.
3. Encienda el anemómetro y seleccione metros por segundo (m /s), mantenga el anemómetro en una posición estable y vuelva a encender el ventilador.
4. Lea el valor de la velocidad del aire cuando la pantalla digital del anemómetro alcanza una lectura estable (normalmente unos 30 s después de que el ventilador se enciende). Ejemplo: Si el anemómetro indica 2,3 m/s con más frecuencia y fluctúa entre 2,2 y 2,4 m/s, el valor VAE de la apertura de la puerta de ventilación específica se registraría como 2,3 ±0,1 m/s.

Una vez que se ha medido la velocidad del aire óptima, el soplador de semilla puede ser recalibrado usando el anemómetro, mediante el ajuste de la configuración del ventilador hasta que se alcanze la velocidad del aire óptimo para el soplador y la especie o variedad. La VAE de un ventilador no es transferible a otro ventilador.

El punto de soplado óptimo debe ser verificado mediante la muestra de calibración uniforme ISTA después de importantes obras de mantenimiento del soplador, como el cambio de partes del motor o de la columna de vidrio. En general, se recomienda fuertemente que el punto de soplado se verifique anualmente usando la muestra de calibración uniforme ISTA.

Los laboratorios que no pueden, o no utilizan la VAE para determinar el punto de soplado, deben calibrar el ventilador con la muestra de calibración uniforme ISTA.

Nota: El uso frecuente de la muestra de calibración uniforme ISTA, puede causar un cambio en el punto de soplado debido al deterioro y el monitoreo del punto de soplado, simplemente mediante la apertura de la puerta de aire, puede ser fiable en algunos sopladores y no en otros.

3.4.2.3 Tipo de anemómetro

Se puede utilizar cualquier anemómetro adecuado, siempre que el anemómetro caba en el compartimento del soplador que soporta la taza de la muestra y tenga una escala calibrada en metros por segundo para la lectura del valor de la velocidad del aire.

3.4.2.4 Calibración del anemómetro

El anemómetro debe ser calibrado a intervalos establecidos por el laboratorio. Además, las baterías deben ser reemplazadas por lo menos una vez al año.

3.5 Procedimiento

3.5.1 Muestra de trabajo

El análisis de la pureza debe hacerse sobre una muestra de trabajo tomada de la muestra remitida en conformidad con 2.5.2, habiéndo recibido la muestra remitida en conformidad con 2.5.1. Excepto para las especies de *Poaceae* para las cuales el método de soplado uniforme debe ser utilizado, el tamaño de la muestra de trabajo debe tener:

- ***o*** un peso estimado que contenga al menos 2500 unidades de semillas;
- ***o*** no menos que el peso indicado en la columna 4 de la Tabla 2A.

El análisis puede hacerse con una muestra de trabajo de este peso o con dos submuestras de al menos la mitad de este peso, cada una producida independientemente.

La muestra de trabajo (o cada submuestra) se debe sopesar en gramos al número mínimo de decimales necesarios para calcular el porcentaje de sus componentes con un decimal, como se indica a continuación:

Peso de la muestra de trabajo o submuestra (g)	Número mínimo de cifras decimales
Menos que 1,000	4
1,000–9,999	3
10,00–99,99	2
100,0–999,9	1
1000 o más	0

3.5.2 Separación

1. Después de haber sido pesada, la muestra de trabajo (o submuestra), debe ser separada en sus componentes como se define en 3.2. En general, la separación debe basarse sobre un examen de cada una de las partículas de la muestra, pero en ciertos casos los procedimientos especiales son obligatorios, como por ejemplo el soplado uniforme.
2. La separación de la semilla pura debe ser de manera que pueda ser hecha por características visibles de las semillas, ayudas mecánicas o utilizando presión sin perjudicar la capacidad para su germinación.
3. Cuando es difícil o imposible de distinguir entre las especies, se debe seguir uno de los procedimientos descritos en 3.5.2.4. Además, para los métodos que pueden utilizarse para distinguir claramente las especies y cultivares, pero no son permisibles en el análisis de pureza, siga Capítulo 8.
4. Después de la separación, se debe sopesar en gramos al número mínimo de decimales necesarios para calcular el porcentaje a un decimal (3.5.1), cada parte componente (3.3) y cualquier especie de semilla o tipo de otras materias para las cuales un porcentaje debe ser reportado.
   Después de haber pesado, los componentes de otras semillas deberán ser conservados y almacenados como referencia hasta la eliminación de la muestra (véase 2.5.3 y 2.5.4.7).

3.5.2.1 Todas las familias excepto *Poaceae*

Aquenios, schizocarps y mericarpios, otras frutas y semillas han de ser examinados superficialmente solamente, sin el uso de presión, un diaphanascopio u otro equipo especial. Tiene que ser considerada como materia inerte, si es obvio durante el examen que no hay semilla en la estructura.

3.5.2.2 *Poaceae*

Cariópsides

En *Lolium, Festuca, ×Festulolium* y *Elytrigia repens* un florete con una cariópside de un tercio o más de la longitud de la palea medida desde la base de la rachilla, es considerado como semilla pura u otra semilla, pero un florete con una cariópside menos de un tercio de la longitud de palea es considerado como materia inerte. En otros géneros o especies un florete con cualquier endospermo en la cariópside es considerado como semilla pura.

Floretes estériles

En los siguientes géneros un florete estéril conectado a un florete fértil no se quita, si no se deja adjunto y incluido en la fracción de semilla pura: *Arrhenatherum, Avena, Bromus, Chloris, Dactylis, Festuca, ×Festulolium, Holcus*, *Koeleria, Lolium, Poa, Sorghum, Triticum dicoccon* y *Triticum spelta.*

3.5.2.3 Semilla dañada

Si las unidades de semillas mencionados en 3.2.1 no muestran daño evidente a la testa o al pericarpio, se les considera como semilla pura u otra semilla, independientemente de si están llenas o vacías; pero pueden surgir dificultades cuando hay una abertura en la testa o en el pericarpio. Si es posible, el analista debe decidir si la parte sólida restante de la unidad de semilla es más grande que la mitad del tamaño original y aplicar esta norma en consecuencia. Si tal determinación no se puede hacer fácilmente, la unidad de semilla se clasifica como semilla pura u otra semilla. No es necesario para las unidades de semillas individuales que sean analizadas para determinar la presencia o ausencia de orificios u otras áreas dañadas en la parte inferior.

Floretes rotos y cariópsides se clasifican como semilla pura u otra semilla si el trozo es mayor que la mitad del tamaño original (3.2.1.1.2).

3.5.2.4 Especies indistinguibles

Cuando es difícil o imposible distinguir entre las especies, uno de los dos siguientes procedimientos puede ser seguido:

a) como todas las semillas de ese género (por ejemplo dos semillas aristadas y imberbes de *Lolium*) estan clasificadas como semillas puras, en el Certificado de análisis está reportado sólo el nombre del género; información adicional puede ser reportada bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)*, o
b) las semillas similares se separan de los otros componentes y se pesan juntas. A partir de esta mezcla, al menos 400 semillas, y preferiblemente alrededor de 1000, se toman al azar; una separación final se realiza en esta porción y la proporción de cada especie es determinada por el peso. A partir de esta proporción se puede calcular el porcentaje de cada especie en toda la muestra (3.6).

Si se sigue este procedimiento, los detalles deben ser reportados incluyendo el número de semillas examinadas.

Los procedimientos son aplicables cuando la semilla está descrita por el remitente como especie de *Agrostis, Brassica, Poa, Lolium, Festuca rubra* o *F. ovina* y en otros casos a discreción del analista.

3.5.2.5 *Poa pratensis, Poa trivialis y Dactylis glomerata*

Para *Poa pratensis, Poa trivialis* y *Dactylis glomerata*, el método del soplado uniforme (véase 3.4.2) es obligatorio.

El tamaño de la muestra de trabajo es de 1 g para *Poa pratensis* y *Poa trivialis*, y de 3 g para *Dactylis glomerata*.

Los ajustes del ventilador óptimos para *Poa pratensis* y *Dactylis glomerata* se determinan por medio de una muestra de calibración uniforme expedida bajo la autoridad de la ISTA (véase 3.4.2.1). El ajuste óptimo para las variedades de *Poa pratensis* listadas en la Tabla 3A, con un peso promedio de mil semillas de menos de 0,35 g y para *Poa trivialis* se obtiene multiplicando el valor de configuración del ajuste del ventilador óptimo de *Poa pratensis* por 0,82 (se aplica sólo para los sopladores de semillas de tipo general).

Para aquellos que no tienen un soplador de tipo general de semillas, por favor póngase en contacto con la Secretaría ISTA.

Para soplar las muestras, ajustar el ventilador de la semilla hasta la configuración óptima del ventilador, obtenido con la muestra de calibración uniforme ISTA o el anemómetro (see 3.4.2.1).

Coloque la muestra de trabajo en la taza y sople durante exactamente 3 minutos.

Antes de soplar, la muestra de trabajo debe ser expuesta a las condiciones de la sala para que se equilibre con las condiciones ambientales.

Tabla 3A. Lista de variedades de *Poa pratensis* con un peso promedio de mil semillas de menos de 0.35 g.

Variedad	Peso de 1000 semillas (g)
Balin	0,34
Compact	0,34
Julia	0,33
Limousine	0,33
Enprima	0,32
Oxford	0,32
Ikone	0,31
Sobra	0,31
Pegasus	0,29
Platini	0,29
Slezanka	0,28
Mardona	0,27
Tommy	0,26
Lato	0,24
Harmony	0,23

3.5.2.5.2 Separación de la fracción pesada

1. Todas las unidades de semillas de las especies objeto de análisis que quedan en la copa después de soplar (es decir, la fracción pesada) se clasifican como semilla pura incluidas:
   1. floretes individuales intactos. Para *Dactylis glomerata* referirse a Tabla 3B Parte 2;
   2. todos los floretes múltiples intactos de *Poa pratensis* y de *Poa trivialis* y las unidades de semillas múltiples de *Dactylis glomerata* (3.2.1.2.2);
   3. floretes con cuerpos de hongos, como el cornezuelo, totalmente encerrados dentro de lema y palea;
   4. floretes y cariópsides libres (lema y palea faltantes) que sean dañados por insectos o afectados, incluyendo cariópsides que sean esponjosas, acorchamiento, blanco o desmenuzable;
   5. floretes rotos y cariópsides más grandes de la mitad del tamaño original.

2. Clasifique las siguientes *Poa pratensis*, *Poa trivialis* o los floretes y las cariópsides de *Dactylis glomerata* como materia inerte:
   1. floretes con cornezuelo exertos desde la punta del florete;
   2. floretes y cariópsides rotos, la mitad o menos de la mitad de su tamaño original.

3. Otras semillas (incluyendo otra *Poa* spp.), palos, troncos, arena, etc. deben ser clasificados de acuerdo con 3.2.2 y 3.2.3.

3.5.2.5.3 Separación de la fracción ligera

La fracción ligera comprende unidades de semillas y otro material eliminado soplando en el punto de soplado uniforme.

1. Todos los floretes y las cariópsides de *Poa pratensis*, *Poa trivialis* o *Dactylis glomerata* contenidos en la fracción ligera deben ser considerados como materia inerte.
2. Otras semillas (incluyendo otra *Poa* spp. en *P. pratensis* y *P. trivialis*), palos, troncos, arena, etc. deben ser clasificados de acuerdo con 3.2.2 y 3.2.3. Cuando están presentes en una muestra de *Poa pratensis* o *Poa trivialis* flósculos fértiles de algunas *Poa* spp. (por ejemplo *Poa compressa*), es necesario examinar toda la fracción ligera con una lupa. Si están presentes, en una muestra, semillas de estas especies en cantidades menores (l–3%), es generalmente más fácil eliminar todos los floretes de las fracciones pesadas y ligeras y determinar el porcentaje de otras semillas sobre la base del peso total. Cuando las semillas de otra *Poa* spp. están presentes en una muestra de *Poa pratensis* o *Poa trivialis* en cantidades mayores (03.05%), el analista puede utilizar el método alternativo descrito en 3.5.2.5.3.

3.5.2.5.4 Procedimiento alternativo para otras *Poa* spp. clasificadas como otras semillas en *Poa pratensis* o *Poa trivialis*

Floretes fértiles de otra *Poa* spp. cultivada, se eliminan de la fracción ligera y se mezclan con los floretes de la fracción pesada. Al menos 400 floretes, y preferiblemente 1000, deben ser tomados al azar de esta mezcla (o de los floretes en la fracción pesada si no hay otra *Poa* spp. presente en la fracción ligera). Estos se separan bajo magnificación en los diferentes *Poa* spp. presentes. El porcentaje de cada uno se determina entonces en peso (3.6).

3.5.2.5.5 Procedimiento para las semillas tratadas químicamente de especies para las que soplar es el método prescrito para la prueba de la pureza

Cuando tal tratamiento químico afecta a las características de la semilla de ser soplada, la pureza de la muestra debe ser determinada por el método manual y el Certificado avalado con las palabras: (Debido al tratamiento químico, la prueba de pureza se ha llevado a cabo por el método de la mano). Cuando el lote de semillas ha sido analizado antes de aplicar el tratamiento y se requiere sólo un resultado de germinación después del tratamiento, entonces el certificado deberá ir acompañado de las palabras: (Debido al tratamiento químico, la semilla pura usada para la germinación se obtuvo por el método de la mano).

3.5.2.6 Unidades de semillas múltiples (USM)

A petición del solicitante en los géneros cubiertos por DSP 33: las unidades de semillas múltiples deben ser pesadas por separado y reportadas de acuerdo con 3.7.

3.5.2.7 Procedimiento en caso de impurezas individuales con efecto indebido en los resultados

Las impurezas que se desvíen considerablemente del tamaño o del peso del tamaño de la semilla de la muestra, está probado pueden afectar indebidamente los resultados de los análisis. Tales casos pueden surgir con piedras, grandes granos de cereales, etc., en una cosecha de semilla pequeña. Si son relativamente fáciles de eliminar, por ejemplo con tamices, eliminar estas impurezas de toda la muestra remitida (o una muestra de al menos 10 veces el peso utilizado para el análisis de pureza) y realizar un análisis normal sobre el material limpiado, en muestras de trabajo del peso usual. Estas impurezas deben ser reportadas y los cálculos deben hacerse de conformidad con 3.6.5.

3.5.2.8 Apéndices adjuntos

En ciertos géneros (los cubiertos por el DSP 15, 38, 46 y 62) semillas/frutos pueden tener varios apéndices (aristas, tallo, etc.) adjuntos. Tales apéndices deben dejarse unidos a las semillas, pero a petición del solicitante, debe ser reportado el contenido de semillas con apéndices más largos que la mayor dimensión de acuerdo con 3.7.

3.5.2.9 Semillas aladas

Para las semillas con DSP 47, semillas aladas son aquellas que retienen un integumento, ya sea con o sin ala o una porción del mismo. Para las semillas con DSP 51, semillas aladas son aquellas que retienen el ala o una porción del mismo. Cuando están presentes, dichos apéndices deben quedar unidos a la semilla y el contenido de semillas (aladas) reportado de acuerdo con 3.7.

3.6.Cálculo y expresión de los resultados

3.6.1 Muestra de trabajo conjunta

3.6.1.1 Prueba para el aumento de peso o pérdida durante el análisis

Añadir juntos los pesos de todas las fracciones componentes la muestra de trabajo. Esta suma debe ser comparada con el peso original como un chequeo contra la ganancia o la pérdida. Si hay una discrepancia de más del 5% del peso inicial, se debe hacer una nueva prueba. El resultado de la segunda prueba se reporta a continuación.

3.6.1.2 Cálculo de los porcentajes de los componentes

El porcentaje en peso de cada uno de los componentes reportado sobre el certificado de análisis (3.7) se debe dar a un decimal. Los porcentajes se basan en la suma de los pesos de los componentes, no en el peso original de la muestra de trabajo.

El porcentaje de semilla de cualquier especie que no sea semilla pura, o de cualquier tipo particular de materia inerte, no tiene por qué ser calculado con excepción de lo requerido por 3.7.

3.6.1.3 Procedimiento de redondeo

Porcentajes de fracciones se redondean a una cifra decimal. Después del redondeo, sume los porcentajes de todas las fracciones. Las fracciones que deben ser indicadas como un (Trazas) (véase 3.7) se excluyen de este cálculo; las otras fracciones deben luego juntas totalizar 100,0 %. Si la suma no es igual a 100,0 % (ya sea 99,9 o 100,1 %), sumar o restar 0,1 % desde el valor más grande (normalmente la fracción de semilla pura).

Nota: Si es necesaria una corrección de más del 0,1 %, compruebe si hay un error de cálculo.

3.6.2 Dos medias muestras de trabajo

3.6.2.1 Prueba para el aumento de peso o pérdida durante el análisis

Juntar los pesos de todas las fracciones componentes independientemente de cada media muestra de trabajo. Estas sumas deben ser comparadas con el peso original como cheque contra la ganancia o pérdida. Si hay una discrepancia de más del 5 % del peso inicial, se requiere una nueva prueba de dos medias muestras de trabajo. Tiene que ser indicado el resultado de la segunda prueba.

3.6.2.2 Cálculo de los porcentajes de los componentes

Para cada media muestra de trabajo, calcule el porcentaje en peso de cada componente (3.3) al menos a dos cifras decimales. Los porcentajes deben basarse en la suma de los pesos de los componentes en cada media muestra de trabajo, no en los pesos originales de las muestras de trabajo. Junte los porcentajes correspondientes de cada media muestra de trabajo y calcule el porcentaje promedio en peso de cada componente. (Si se desea, los porcentajes pueden ahora ser redondeados a un mínimo de dos cifras decimales; pero no corregir hasta 100,00 %). Compruebe con tolerancias y redondee de acuerdo con 3.6.2.3 y 3.6.2.4, respectivamente. El porcentaje de semilla de una singular especie que no sea la de la semilla pura o de cualquier tipo singular de materia inerte, no tiene por qué ser calculado, con excepción de lo requerido por 3.7. Para determinar los porcentajes finales del reportaje, sume los pesos de semilla pura, la materia inerte y otras semillas en cada réplica y vuelva a calcular los porcentajes basados en el peso total de cada fracción en el análisis de la pureza.

3.6.2.3 Prueba para la variación entre las dos medias muestras de trabajo

La diferencia para cada componente de las dos medias muestras de trabajo no debe estar en exceso de la tolerancia dada en la Tabla 3C. Utilice el promedio de un componente para encontrar el rango correspondiente de porcentajes en las columnas 1 o 2; columnas 3 o 4 darán la diferencia máxima permitida entre los dos valores del particular componente. Para la definición de brozoso, consulte 3.6.6.

Repita esto para todos los componentes. Si todos los componentes están dentro de la tolerancia, cálcule la media de cada componente como se prescribe en 3.6.2.2 y 3.6.2.4.

Si algunos de los componentes están fuera de la tolerancia, utilice el procedimiento siguiente:

a) Analize otros pares (pero no más de cuatro pares en total) hasta que se obtenga un par que tiene a sus miembros dentro de la tolerancia.
b) Deseche cualquier par en el que la diferencia entre sus miembros supera el doble de la tolerancia.
c) El porcentaje de un componente finalmente registrado, debe calcularse a partir de la media ponderada de todos los pares restantes.

Es recomendable tratar de encontrar la causa de la variación encontrada, especialmente si las pruebas adicionales también muestran mucha diferencia. En tales casos, utilice el procedimiento como se describe en 3.5.2.7.

3.6.2.4 Procedimiento de redondeo

Si todas las repeticiones de todas las fracciones están dentro de la tolerancia, agregue los pesos de las fracciones correspondientes juntas, calcule porcentajes y redondee a una cifra decimal. Consulte 3.6.1.3 para el procedimiento de corrección.

3.6.3 Dos o más muestras de trabajo conjuntas

Hay ocasiones en que es necesario probar una segunda muestra de trabajo conjunta. Cuando se lleva a cabo una segunda prueba el siguiente procedimiento debe ser seguido.

3.6.3.1 Procedimientos

Realize el análisis de acuerdo con 3.5 y el cálculo según lo prescrito en 3.6.1.

3.6.3.2 Prueba para variación entre muestras

Cuando se han llevado a cabo dos pruebas completas, proceda como con el análisis por duplicado sobre mitad muestras de trabajo (3.6.2), pero use la columna 5 o 6 para determinar la máxima diferencia permitida entre los dos valores del componente particular para la búsqueda de la tolerancia apropiada. Si se ha emitido ya sobre la base de la primera prueba un certificado ISTA, refierese a 1.6.

Si la diferencia entre los resultados excede la tolerancia, analizar uno o dos más muestras de trabajo hasta que se haya obtenido un par que tiene sus componentes dentro de la tolerancia (no más de cuatro muestras en total). Reporte el promedio pesado de las muestras para los que los resultados más altos y más bajos no difieren en más del doble de la tolerancia (de acuerdo con 3.6.3.3), a menos que sea evidente que uno o más de estos resultados se deben a un error y no a la variación aleatoria de la muestra. En ese caso, desechar la prueba (s) con errores. Si ningún par de resultados está dentro de la tolerancia, es aconsejable buscar la causa de la variación encontrada (3.5.2.7).

3.6.3.3 Cálculo y procedimiento de redondeo

Para cada una de las muestras que se incluyen en el resultado final, hay que añadir los pesos juntos de cada fracción y efectuar el cálculo según 3.6.1.2 y redondear de acuerdo con 3.6.1.3. Medie los resultados y de nuevo redondee según 3.6.1.3.

3.6.4 Cálculo para las especies difíciles de separar

Cuando dos o más especies que son difíciles de separar son en la muestra que se está analizando y se realiza una separación final de 400 a 1.000 semillas, como se describe en 3.5.2.4 y 3.5.2.5.3, se hace el siguiente cálculo para calcular el porcentaje en peso de una de las especies contaminantes.

Calcule el porcentaje de las semillas de dicha especie (A) sobre la base de su peso en relación al peso total de 400 a 1.000 semillas y el porcentaje de semilla pura inicial (P_1):

$$A\% = \frac{\text{Peso semillas especie A}}{\text{Peso total de 400 a 1000 semillas}} \times P_1$$

Este porcentaje se añade a continuación al porcentaje del componente otras semillas (como se determinó en el ensayo de pureza sin tener en cuenta estas dificultades de separar especies); el porcentaje de semilla pura se reduce en la misma cantidad a devolver el total para el ensayo de pureza al 100,0 %.

3.6.5 Cálculo de las impurezas individuales que tienen un efecto indebido en los resultados

En el procedimiento como indicado en 3.5.2.7, si m (g) ha sido eliminado de una muestra de M (g) y si el subsecuente análisis de pureza sobre el material limpiado ha dado P_1 (%) semilla pura, I_1 (%) la materia inerte y OS_1 (%) otras semillas, entonces el resultado final de la pureza debe calcularse de la siguiente manera:

$$\text{Semilla pura: } P_2 = P_1 \times \frac{M - m}{M}$$

Donde
M = peso inicial de semilla de la que se toman las impurezas que tienen un efecto indebido en los resultados y
m = peso de la impureza que tiene un efecto indebido en los resultados.

$$\text{Materia inerte: } I_2 = I_1 \times \frac{M - m}{M} + D_1$$

Donde
$D_1 = (m_1/M) \cdot 100$;
m_1 = peso de impurezas con efecto indebido, retirado y clasificado como materia inerte.

$$\text{Otra semilla: } OS_2 = OS_1 \times \frac{M - m}{M} + D_2$$

Donde
$D_2 = (m_2/M) \cdot 100$;
m_2 = peso de impurezas con efecto indebido, retirado y clasificado como semillas de otras plantas.

(Comprobe que $P_2 + I_2 + OS_2 = 100{,}0$ %)

3.6.6 Estructuras de semillas brozosas

Unidades de dispersión brozosas son unidades que, debido a su estructura o textura:

1. es probable que se adhieran entre sí o con otros objetos (bolsos tejidos, equipo de muestreo, separadores, etc.);
2. pueden causar que otras semillas queden atrapadas o de otra manera capturadas en las semillas de cultivos;
3. no pueden ser fácilmente limpiadas, mezcladas o muestreadas.

Una muestra puede ser considerada como brozosa si el total de todas las estructuras brozosas (incluyendo materia inerte brozosa) es un tercio o más. La Brozosidad se indica en la Tabla 3B Parte 1 por una (C) en columna 4.

3.7 Indicación de los resultados

Los resultados de un análisis de pureza deben ser reportados en los espacios disponibles como sigue:

- El nombre científico de la especie de semilla pura, en conformidad con la Tabla 2A (por ejemplo *Triticum aestivum*). Cuando no sea posible determinar la especie con certeza sobre la base de características de las semillas, sólo deberá indicarse el nombre del género (por ejemplo *Malus* sp.).
- El porcentaje en peso de semillas puras, la materia inerte y otras semillas, dado a un decimal. El porcentaje de todos los componentes debe sumar 100%. Componentes por valor de menos de 0,05% deben ser reportados como (Trazas) o (TR) (de (*Trace*)). Si no se encuentra ni materia inerte ni otras semillas, esto debe ser reportado como (0,0).
- El tipo de materia inerte.
- El nombre científico de cada especie encontrada de otras semillas, en conformidad, en su caso, con la corriente *ISTA List of Stabilized Plant Names*, disponible en *www.seedtest.org/stablist* (por ejemplo *Elytrigia repens*).
- Cuando el peso de la muestra de trabajo analizada para la pureza es igual o es más del 10% más alto que el peso especificado en la Tabla 2A, columna 4 (análisis de pureza), en el Certificado ISTA, no se requiere ninguna declaración, con respecto al peso de la muestra de trabajo.
- Cuando el peso de la muestra de trabajo analizada para la pureza se desvía de lo especificado en la Tabla 2A, columna 4, debe ser reportado en el certificado ISTA el peso real de la muestra de trabajo, pesado de acuerdo a 3.5.1, usando uno de los siguientes, según sea aplicable:
  a) Al analizar un peso que supera en un 10% el peso especificado en la Tabla 2A, columna 4, reporte como otras determinaciones: (Pureza … g)
  b) Cuando analize un peso estimado para que contenga 2500 unidades de semillas, reporte como otras determinaciones: (Pureza: … g (aproximadamente 2500 semillas))
  c) Cuando la muestra remitida recibida para los análisis de pureza pesa menos que el peso en la Tabla 2A, columna 4, reporte como otras determinaciones y declare, de acuerdo con 2.5.4.5: (La muestra remitida pesaba sólo ... g y no está en conformidad con las Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas).
- El porcentaje de semillas con alas (como se define en las Definiciones de Semillas Puras 47 y 51), si se encontraran semillas aladas.

Previa solicitud, la siguiente información debe ser reportada bajo “Otras determinaciones” *(Other determinations)* en la siguiente manera:

- El porcentaje en peso de una especie específica, se pone inmediatamente después del nombre de la especie con el 0,1% más cercano. Se enumeran primero las especies para las que se ha solicitado el porcentaje en peso.
- Otras semillas pueden ser divididas en (Semillas de otros cultivos) y (Semillas de malas hierbas). En este caso deben introducirse las palabras (Semillas de otros cultivos), seguidas por el porcentaje en peso de las semillas de otros cultivos y el nombre (s) de las especies encontradas. Este procedimiento también debe ser utilizado para (Semillas de malas hierbas).
- Unidades de semillas múltiples deben ser reportadas como (% USM).
- Semillas con apéndices adjuntos deben ser reportadas como (% semillas con apéndices adjuntos).
- Las clases de la materia inerte, junto con el porcentaje en peso de cualquier particular tipo (con un decimal).

Si se solicita los porcentajes pueden ser reportados a más de un decimal.

3.8 Definiciones de semilla pura

El número de definición de semilla pura (DSP) para cada género se enumera en la Tabla 3B Parte 1. Géneros considerados brozosos se indican con una (C), con el propósito de aplicar la columna correcta de las tablas de tolerancias (Tablas 3C-E, columna 4; véase también 3.6.2.3 y 3.6.6).

Los detallos de las definiciones de semillas puras se enumeran en la Tabla 3B Parte 2. Las estructuras descritas en las definiciones en la parte 2, deberán ser clasificadas como semilla pura. Apéndices no deben ser clasificados como semilla pura, a menos que se haga referencia específicamente en la Tabla 3B Parte 2.

Se puede encontrar un glosario de términos que figuran en la Tabla 3B, Parte 2 en la Tabla 3B, Parte 3.

Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Abelmoschus	*Malvaceae*	10	
Abies	*Pinaceae*	51	C
Abutilon	*Malvaceae*	16	
Acacia	*Fabaceae*	50	
Acer	*Aceraceae*	52	C
Achillea	*Asteraceae*	1	
Adonis	*Ranunculaceae*	4	
Aeschynomene	*Fabaceae*	23	C
Aesculus	*Hippocastanaceae*	10	
Ageratum	*Asteraceae*	4	C
Agrimonia	*Rosaceae*	3	C
Agropyron	*Poaceae*	28	C
Agrostis	*Poaceae*	34	C
Ailanthus	*Simaroubaceae*	52	C
Alcea	*Malvaceae*	16	C
Allium	*Alliaceae*	10	
Alnus	*Betulaceae*	53	C
Alopecurus	*Poaceae*	34	C
Althaea	*Malvaceae*	16	C
Alysicarpus	*Fabaceae*	20	
Alyssum	*Brassicaceae*	11	C
Amaranthus	*Amaranthaceae*	10	
Amberboa	*Asteraceae*	4	C
Ammobium	*Asteraceae*	1	
Amorpha	*Fabaceae*	22	
Anagallis	*Primulaceae*	10	
Anchusa	*Boraginaceae*	18	C
Andropogon	*Poaceae*	42	C
Anemone	*Ranunculaceae*	4	C
Anethum	*Apiaceae*	15	C
Angelica	*Apiaceae*	15	C
Anthoxanthum	*Poaceae*	29	C
Anthriscus	*Apiaceae*	15	C
Anthyllis	*Fabaceae*	11	
Antirrhinum	*Scrophulariaceae*	10	C
Apium	*Apiaceae*	15	C
Aquilegia	*Ranunculaceae*	10	
Arabis	*Brassicaceae*	11	
Arachis	*Fabaceae*	21	C
Arctium	*Asteraceae*	4	
Arctotis	*Asteraceae*	4	C
Armeria	*Plumbaginaceae*	2	C
Arrhenatherum	*Poaceae*	35	C
Artemisia	*Asteraceae*	1	
Asclepias	*Asclepiadaceae*	10	C
Asparagus	*Asparagaceae*	10	
Aster	*Asteraceae*	4	
Astragalus	*Fabaceae*	11	
Astrebla	*Poaceae*	41	C
Atriplex	*Chenopodiaceae*	2	
Atropa	*Solanaceae*	10	
Aubrieta	*Brassicaceae*	11	
Aurinia	*Brassicaceae*	11	C
Avena	*Poaceae*	33	C
Axonopus	*Poaceae*	36	C
Bassia	*Chenopodiaceae*	2	C

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Beckmannia	*Poaceae*	34	C
Begonia	*Begoniaceae*	10	
Bellis	*Asteraceae*	1	
Berberis	*Berberidaceae*	50	
Beta	*Chenopodiaceae*	46	C
Betula (véase también el Capítulo 13)	*Betulaceae*	53	C
Borago	*Boraginaceae*	18	C
Bothriochloa	*Poaceae*	42	C
Bouteloua	*Poaceae*	42	C
Brachiaria	*Poaceae*	36	C
Brachyscome	*Asteraceae*	5	
Brassica	*Brassicaceae*	11	
Briza	*Poaceae*	34	C
Bromus	*Poaceae*	33	C
Browallia	*Solanaceae*	10	
Brunnera	*Boraginaceae*	18	C
Cajanus	*Fabaceae*	11	
Calceolaria	*Scrophulariaceae*	10	
Calendula	*Asteraceae*	1	C
Callistephus	*Asteraceae*	1	
Calocedrus	*Cupressaceae*	49	C
Calopogonium	*Fabaceae*	11	
Camelina	*Brassicaceae*	11	
Campanula	*Campanulaceae*	10	
Cannabis	*Cannabaceae*	4	
Capsicum	*Solanaceae*	10	
Caragana	*Fabaceae*	11	
Carpinus	*Betulaceae*	57	C
Carthamus	*Asteraceae*	4	
Carum	*Apiaceae*	15	
Castanea	*Fagaceae*	57	
Catalpa	*Bignoniaceae*	48	C
Cedrela	*Meliaceae*	48	C
Cedrus	*Pinaceae*	51	C
Celosia	*Amaranthaceae*	10	
Cenchrus	*Poaceae*	43	C
Centaurea	*Asteraceae*	4	C
Centrosema	*Fabaceae*	11	
Cerastium	*Caryophyllaceae*	10	
Chamaecrista	*Fabaceae*	11	
Chamaecyparis	*Cupressaceae*	49	C
Chelidonium	*Papaveraceae*	13	C
Chloris (véase también el Capítulo 13)	*Poaceae*	42	C
Chrysanthemum	*Asteraceae*	1	C
Cicer	*Fabaceae*	11	
Cichorium	*Asteraceae*	4	C
Citrullus	*Cucurbitaceae*	10	
Clarkia	*Onagraceae*	10	
Claytonia	*Portulacaceae*	10	
Cleome	*Capparidaceae*	10	
Cnicus (véase *Centaurea*)			
Cobaea	*Polemoniaceae*	14	C
Coix	*Poaceae*	37	C

Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género (continuación)

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Coleostephus	*Asteraceae*	1	C
Coleus (véase *Plectranthus*)			
Consolida	*Ranunculaceae*	10	C
Convolvulus	*Convolvulaceae*	10	
Corchorus	*Tiliaceae*	10	
Coreopsis	*Asteraceae*	8	C
Coriandrum	*Apiaceae*	15	
Cornus	*Cornaceae*	55	
Corylus	*Betulaceae*	57	
Corymbia (véase también el Capítulo 13)	*Myrtaceae*	60	C
Cosmos	*Asteraceae*	4	C
Cotoneaster	*Rosaceae*	56	
Crambe	*Brassicaceae*	23	
Crataegus	*Rosaceae*	56	
Crotalaria	*Fabaceae*	11	
Cryptomeria	*Taxodiaceae*	49	C
Cucumis	*Cucurbitaceae*	10	
Cucurbita	*Cucurbitaceae*	10	
Cuminum	*Apiaceae*	15	C
Cupressus	*Cupressaceae*	49	C
Cyamopsis	*Fabaceae*	11	
Cyclamen	*Primulaceae*	10	
Cydonia	*Rosaceae*	10	
Cymbalaria	*Scrophulariaceae*	10	C
Cynara	*Asteraceae*	4	
Cynodon	*Poaceae*	28	C
Cynoglossum	*Boraginaceae*	18	C
Cynosurus	*Poaceae*	28	C
Cytisus	*Fabaceae*	50	
Dactylis	*Poaceae*	33	C
Dahlia	*Asteraceae*	9	C
Datura	*Solanaceae*	10	
Daucus	*Apiaceae*	15	C
Delphinium	*Ranunculaceae*	10	C
Deschampsia	*Poaceae*	28	C
Desmodium	*Fabaceae*	11	C
Dianthus	*Caryophyllaceae*	10	C
Dichanthium	*Poaceae*	42	C
Dichondra	*Convolvulaceae*	10	
Digitalis	*Scrophulariaceae*	10	
Digitaria	*Poaceae*	36	C
Dimorphotheca	*Asteraceae*	8	C
Doronicum	*Asteraceae*	4	C
Dorotheanthus	*Aizoaceae*	10	
Echinacea	*Asteraceae*	1	C
Echinochloa	*Poaceae*	36	C
Echinops	*Asteraceae*	26	C
Echium	*Boraginaceae*	18	C
Ehrharta	*Poaceae*	29	C
Elaeagnus	*Elaeagnaceae*	57	
Eleusine	*Poaceae*	61	
Elymus	*Poaceae*	28	C
Elytrigia	*Poaceae*	28	C
Eragrostis	*Poaceae*	28	

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Erigeron	*Asteraceae*	4	C
Eruca	*Brassicaceae*	11	
Erysimum	*Brassicaceae*	11	
Eschscholzia	*Papaveraceae*	10	
Eucalyptus (véase también el Capítulo 13)	*Myrtaceae*	60	C
Euonymus	*Celastraceae*	10	
Fagopyrum	*Polygonaceae*	2	C
Fagus	*Fagaceae*	57	C
Fatsia	*Araliaceae*	10	C
Festuca	*Poaceae*	33	C
×*Festulolium*	*Poaceae*	33	C
Foeniculum	*Apiaceae*	15	C
Fragaria	*Rosaceae*	1	
Fraxinus	*Oleaceae*	52	C
Freesia	*Iridaceae*	10	
Gaillardia	*Asteraceae*	4	C
Galega	*Fabaceae*	11	
Galeopsis	*Lamiaceae*	18	
Gazania	*Asteraceae*	4	C
Gentiana	*Gentianaceae*	10	C
Geranium	*Geraniaceae*	17	
Gerbera	*Asteraceae*	4	C
Geum	*Rosaceae*	4	C
Gilia	*Polemoniaceae*	10	
Ginkgo	*Ginkgoaceae*	10	
Glandularia	*Verbenaceae*	18	
Glebionis	*Asteraceae*	1	C
Gleditsia	*Fabaceae*	11	
Glycine	*Fabaceae*	11	
Gomphrena	*Amaranthaceae*	2	C
Goniolimon	*Plumbaginaceae*	27	C
Gossypium	*Malvaceae*	12	C
Grevillea	*Proteaceae*	14	C
Gypsophila	*Caryophyllaceae*	10	
Hedysarum	*Fabaceae*	11	
Helenium	*Asteraceae*	4	C
Helianthemum	*Cistaceae*	10	
Helianthus	*Asteraceae*	4	
Helichrysum (véase *Xerochrysum*)			
Heliopsis	*Asteraceae*	1	
Heliotropium	*Boraginaceae*	18	C
Helipterum (véase *Rhodanthe*)			
Hesperis	*Brassicaceae*	11	
Heteranthemis	*Asteraceae*	1	C
Heuchera	*Saxifragaceae*	10	C
Hibiscus	*Malvaceae*	10	
Hippeastrum	*Amaryllidaceae*	10	
Holcus	*Poaceae*	35	C
Hordeum	*Poaceae*	62	
Hypericum	*Hypericaceae*	10	
Hyssopus	*Lamiaceae*	18	
Iberis	*Brassicaceae*	11	
Ilex	*Aquifoliaceae*	56	
Impatiens	*Balsaminaceae*	10	

Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género (continuación)

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Inula	*Asteraceae*	4	C
Ipomoea	*Convolvulaceae*	10	
Jacobaea	*Asteraceae*	4	C
Juniperus	*Cupressaceae*	11	
Kalanchoe	*Crassulaceae*	10	C
Kniphofia	*Asphodelaceae*	10	C
Kochia (véase *Bassia*)			
Koeleria	*Poaceae*	33	C
Koelreuteria	*Sapindaceae*	10	
Kummerowia	*Fabaceae*	22	
Lablab	*Fabaceae*	11	
Laburnum	*Fabaceae*	11	
Lactuca	*Asteraceae*	4	C
Lagenaria	*Cucurbitaceae*	10	
Larix	*Pinaceae*	51	C
Lathyrus	*Fabaceae*	11	C
Lavandula	*Lamiaceae*	18	
Lavatera	*Malvaceae*	16	
Legousia	*Campanulaceae*	10	
Lens	*Fabaceae*	11	
Leontopodium	*Asteraceae*	1	C
Leonurus	*Lamiaceae*	18	
Lepidium	*Brassicaceae*	11	
Lespedeza	*Fabaceae*	22	
Leucaena	*Fabaceae*	11	
Leucanthemum	*Asteraceae*	1	C
Levisticum	*Apiaceae*	15	C
Liatris	*Asteraceae*	4	C
Ligustrum	*Oleaceae*	10	C
Lilium	*Liliaceae*	10	C
Limonium	*Plumbaginaceae*	27	C
Linaria	*Scrophulariaceae*	10	C
Linum	*Linaceae*	10	
Liquidambar	*Hamamelidaceae*	48	C
Liriodendron	*Magnoliaceae*	52	C
Listia	*Fabaceae*	11	
Lobelia	*Campanulaceae*	10	C
Lobularia	*Brassicaceae*	11	C
Lolium	*Poaceae*	33	C
Lomelosia	*Dipsacaceae*	6	C
Lonas	*Asteraceae*	4	C
Lotononis (véase *Listia*)			
Lotus	*Fabaceae*	11	
Luffa	*Cucurbitaceae*	10	
Lunaria	*Brassicaceae*	11	
Lupinus	*Fabaceae*	11	
Lycopersicon (véase *Solanum*)			
Macroptilium	*Fabaceae*	11	
Macrotyloma	*Fabaceae*	11	
Mahonia (véase *Berberis*)			
Malcolmia	*Brassicaceae*	11	
Malope	*Malvaceae*	16	
Malus	*Rosaceae*	10	
Malva	*Malvaceae*	16	

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Marrubium	*Lamiaceae*	18	
Matricaria	*Asteraceae*	1	C
Matthiola	*Brassicaceae*	11	C
Medicago	*Fabaceae*	11	
Melilotus	*Fabaceae*	21	
Melinis	*Poaceae*	36	C
Melissa	*Lamiaceae*	18	
Mentha	*Lamiaceae*	18	
Mimosa	*Fabaceae*	11	
Mimulus	*Scrophulariaceae*	10	
Mirabilis	*Nyctaginaceae*	1	
Moluccella	*Lamiaceae*	18	
Momordica	*Cucurbitaceae*	10	
Morus	*Moraceae*	57	
Mucuna	*Fabaceae*	11	
Myosotis	*Boraginaceae*	18	
Nasturtium	*Brassicaceae*	11	
Nemesia	*Scrophulariaceae*	10	C
Nemophila	*Hydrophyllaceae*	10	C
Neonotonia	*Fabaceae*	11	
Nepeta	*Lamiaceae*	18	
Nicotiana	*Solanaceae*	10	
Nierembergia	*Solanaceae*	10	C
Nigella	*Ranunculaceae*	10	
Nothofagus	*Fagaceae*	57	C
Ocimum	*Lamiaceae*	18	
Oenothera	*Onagraceae*	10	
Onobrychis	*Fabaceae*	21	C
Origanum	*Lamiaceae*	18	
Ornithopus	*Fabaceae*	23	C
Oryza	*Poaceae*	38	C
Osteospermum	*Asteraceae*	8	C
Panicum	*Poaceae*	36	C
Papaver	*Papaveraceae*	10	
Pascopyrum	*Poaceae*	28	C
Paspalum	*Poaceae*	36	C
Pastinaca	*Apiaceae*	15	C
Pelargonium	*Geraniaceae*	17	
Pennisetum	*Poaceae*	43	C
Penstemon	*Scrophulariaceae*	10	C
Pericallis	*Asteraceae*	4	C
Perilla	*Lamiaceae*	18	
Petroselinum	*Apiaceae*	15	C
Petunia	*Solanaceae*	10	
Phacelia	*Hydrophyllaceae*	10	C
Phalaris	*Poaceae*	29	C
Phaseolus	*Fabaceae*	11	
Phleum	*Poaceae*	28	C
Phlox	*Polemoniaceae*	10	
Pholistoma	*Hydrophyllaeae*	10	C
Physalis	*Solanaceae*	10	
Picea	*Pinaceae*	47	C
Pimpinella	*Apiaceae*	15	C
Pinus I (*P. palustris, P. rigida*)	*Pinaceae*	51	C
Pinus II (todas las demás especies)	*Pinaceae*	47	

Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género (continuación)

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Piptatherum	*Poaceae*	31	C
Pisum	*Fabaceae*	11	
Plantago	*Plantaginaceae*	10	
Platanus	*Platanaceae*	58	C
Platycladus	*Cupressaceae*	49	C
Plectocephalus	*Asteraceae*	4	C
Plectranthus	*Lamiaceae*	18	
Poa (non *bulbosa*)	*Poaceae*	41	C
Poa bulbosa	*Poaceae*	63	C
Populus	*Salicaceae*	12	C
Portulaca	*Portulacaceae*	10	
Primula	*Primulaceae*	10	
Prunus	*Rosaceae*	56	
Psathyrostachys	*Poaceae*	28	C
Psephellus	*Asteraceae*	4	C
Pseudoroegneria	*Poaceae*	28	C
Pseudotsuga	*Pinaceae*	51	C
Psophocarpus	*Fabaceae*	11	
Psylliostachys	*Plumbaginaceae*	27	C
Pueraria	*Fabaceae*	11	
Pyrus	*Rosaceae*	10	
Quercus	*Fagaceae*	57	
Ranunculus	*Ranunculaceae*	4	C
Raphanus raphanistrum	*Brassicaceae*	23	
Raphanus (todas las demás especies)	*Brassicaceae*	11	
Reseda	*Resedaceae*	10	
Rheum	*Polygonaceae*	2	C
Rhodanthe	*Asteraceae*	4	C
Ricinus	*Euphorbiaceae*	13	
Robinia	*Fabaceae*	11	
Rosa	*Rosaceae*	57	
Rosmarinus	*Lamiaceae*	18	
Rudbeckia	*Asteraceae*	1	C
Rumex	*Polygonaceae*	2	C
Ruta	*Rutaceae*	10	
Saintpaulia	*Gesneriaceae*	10	
Salix	*Salicaceae*	12	C
Salpiglossis	*Solanaceae*	10	
Salvia	*Lamiaceae*	18	
Sanguisorba	*Rosaceae*	3	C
Sanvitalia	*Asteraceae*	5	C
Saponaria	*Caryophyllaceae*	10	
Satureja	*Lamiaceae*	18	
Scabiosa	*Dipsacaceae*	6	C
Schefflera	*Araliaceae*	10	
Schizachyrium	*Poaceae*	42	C
Schizanthus	*Solanaceae*	10	
Scorzonera	*Asteraceae*	4	C
Secale	*Poaceae*	40	
Securigera	*Fabaceae*	21	
Senecio	*Asteraceae*	4	C
Sequoia	*Taxodiaceae*	49	C
Sequoiadendron	*Taxodiaceae*	49	C
Sesamum	*Pedaliaceae*	10	
Setaria	*Poaceae*	36	C

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Silene	*Caryophyllaceae*	10	
Silybum	*Asteraceae*	4	
Sinapis	*Brassicaceae*	11	
Sinningia	*Gesneriaceae*	10	
Solanum	*Solanaceae*	10	
Solanum (sect. *Lycopersicon*)	*Solanaceae*	10	C
Sorbus	*Rosaceae*	10	
Sorghastrum	*Poaceae*	42	C
Sorghum	*Poaceae*	42	C
Spartium	*Fabaceae*	11	
Spergula	*Caryophyllaceae*	10	
Spinacia	*Chenopodiaceae*	2	C
Stachys	*Lamiaceae*	18	
Stylosanthes	*Fabaceae*	24	C
Styphnolobium	*Fabaceae*	20	
Syringa	*Oleaceae*	48	C
Tagetes	*Asteraceae*	4	C
Tanacetum	*Asteraceae*	1	C
Taraxacum	*Asteraceae*	4	C
Taxodium	*Taxodiaceae*	11	C
Taxus	*Taxaceae*	50	
Tectona	*Verbenaceae*	54	
Tetragonia	*Aizoaceae*	19	
Thuja	*Cupressaceae*	49	C
Thunbergia	*Acanthaceae*	10	
Thymus	*Lamiaceae*	18	
Tilia	*Tiliaceae*	57	C
Torenia	*Scrophulariaceae*	10	
Tragopogon	*Asteraceae*	4	C
Trifolium	*Fabaceae*	11	
Trigonella	*Fabaceae*	11	
Tripleurospermum	*Asteraceae*	1	C
Trisetum	*Poaceae*	28	C
×*Triticosecale*	*Poaceae*	40	
Triticum (a excepción de T. spelta y T. dicoccon)	*Poaceae*	40	
Triticum (solo T. spelta y T. dicoccon)	*Poaceae*	33	C
Tropaeolum	*Tropaeolaceae*	16	
Tsuga	*Pinaceae*	51	C
Ulmus	*Ulmaceae*	52	C
Urochloa	*Poaceae*	36	C
Vaccaria	*Caryophyllaceae*	10	
Valeriana	*Valerianaceae*	7	C
Valerianella	*Valerianaceae*	25	C
Verbascum	*Scrophulariaceae*	10	
Verbena	*Verbenaceae*	18	
Viburnum	*Adoxaceae*	55	
Vicia	*Fabaceae*	11	
Vigna	*Fabaceae*	11	
Vinca	*Apocynaceae*	10	
Viola	*Violaceae*	13	
Xeranthemum	*Asteraceae*	4	C
Xerochrysum	*Asteraceae*	4	C
Zea	*Poaceae*	40	

Tabla 3B Parte 1. Números de definición de semilla pura y brozosidad de las semillas, enumerados por género (continuación)

Género	*Familia*	DSP	Brozosa
Zelkova	*Ulmaceae*	59	C
Zinnia	*Asteraceae*	9	C
Zoysia	*Poaceae*	39	C

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura

Por motivo de brevedad, se han combinado con el mismo número varios géneros que tienen las definiciones de semillas puras similares. Las excepciones a la definición general se han dado entre paréntesis. Para definiciones más detalladas individuales para la agricultura y verduras, y flores, especias, hierbas y semillas de plantas medicinales, consulte el Manual ISTA de Definiciones de Semilla Pura (*ISTA Handbook of Pure Seed Definitions)*.

1. Aquenio, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

2. Aquenio o clúster, con o sin perianto o pedicelo, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio o clúster mayor que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Gomphrena: aquenio con o sin perianto peludo, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.

3. Aquenio, con o sin hipanto, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

4. Aquenio, con o sin pico, vilano o brácteas, incluyendo aquenios donde dos o más unidades de semillas están unidas por pericarpios fusionados, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

5. Aquenio, con o sin ala y/o vilano o cerdas, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (sigue)

6. Aquenio, con o sin involucelo, cáliz o pico, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

7. Aquenio, con o sin cáliz plumoso, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

8. Aquenio, con o sin ala, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

9. Aquenio, con o sin cerdas, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
   Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
   Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

10. Semilla, con o sin testa.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

11. Semilla, a condición que una porción de la testa sea adjunta.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una porción de la testa sea adjunta.
    Fabaceae: cotiledones que estan rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Se consideran como materia inerte semillas y trozos de semillas totalmente sin testa.
    Fabaceae: los cotiledones separados se consideran como materia inerte, independientemente de si el eje de la radícula-plúmula y/o más de la mitad de la testa esté adjunta.

12. Semilla, con o sin testa, testa con o sin pelos.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

13. Semilla, con o sin testa, con o sin estrófilo/carúncula.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

14. Semilla, con o sin testa, con o sin ala.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

15. Esquizocarpo/mericarpo, con o sin pedúnculo (de cualquier longitud), a menos que sea obvio que no hay semillas presentes.
    Pedazo de mericarpo más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semilla con el pericarpio parcial o totalmente eliminado.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio parcial o totalmente eliminado.
    Frutas con trozos de pedúnculo más largo que la longitud de la esquizocarpo/pericarpo se reportan de acuerdo con 3.7 (véase también 3.5.2.8).

16. Mericarpo, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Pedazo de mericarpo más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

17. Mericarpo, con o sin pico, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Pedazo de mericarpo más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

18. Nuececilla, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Pedazo de nuececilla más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semillad, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

19. Fruto como una nuez con el que encierra perianto, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Pieza de fruta más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

20. Vaina, o porción de vaina con una semilla.
    Semilla, a condición que sea adjunta una porción de la testa.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que sea adjunta una porción de la testa.
    Cotiledones rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Semillas y trozos de semillas sin testa se consideran como materia inerte. Cotiledones separados se consideran como materia inerte, independientemente de si está unido el eje-radícula plúmula y/o más de la mitad de la testa.

21. Vaina, con o sin cáliz, con semilla (s).
    Semilla, a condición que una porción de la testa sea adjunta.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una porción de la testa sea adjunta.
    Cotiledones rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Semillas y trozos de semillas sin testa se consideran como materia inerte. Cotiledones separados se consideran como materia inerte, independientemente de si está unido el eje-radícula plúmula y/o más de la mitad de la testa.

22. Vaina, con o sin cáliz o brácteas, con una sola semilla.
    Semilla, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
    Cotiledones rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Semillas y trozos de semillas sin testa se consideran como materia inerte. Cotiledones separados se consideran como materia inerte, independientemente de si está unido el eje-radícula plúmula y/o más de la mitad de la testa.

23. Un segmento de vaina o siliqua con una semilla, con o sin pedúnculo o pico terminal, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
    Semilla, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, siempre que una porción de la testa esté adjunta.
    Ornithopus compressus: segmento de vaina con una sola semilla, con o sin segmentos de vaina vacía adjuntas o segmentos parciales.
    Fabaceae: cotiledones rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Semillas y trozos de semillas sin testa se consideran como materia inerte.
    Fabaceae: cotiledones separados se consideran materia inerte, sin distinción de si está unido el eje-radícula plúmula y/o más de la mitad de la testa.

24. Vaina, con o sin pico, a menos que sea obvio que ninguna semilla está presente.
    Semilla, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
    Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
    Cotiledones rotos aparte, pero se mantienen unidos dentro de la testa.
    Semillas y trozos de semillas sin testa se consideran como materia inerte. Cotiledones separados se consideran como materia inerte, independientemente de si está adjunto el eje de la radícula-plúmula y/o más de la mitad de la testa.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

25. Seco, fruto indehiscente con 1-3 lóculos, con o sin cáliz o pedúnculo o fragmento de tallo, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semilla, con o sin testa.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

26. Capitulum con una flor, a menos que sea obvio que ningun aquenio esté presente.
Aquenio, con o sin vilano, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

27. Cabeza de flor, con o sin pedúnculo, a menos que sea obvio que no hay aquenios presentes.
Aquenio, con o sin perianto, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de aquenio más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semilla, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa parcial o totalmente eliminado.

28. Florete, con lema y palea que encierra una cariópside, con o sin arista.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Elytrigia repens: Florete con lema y palea que encierra una cariópside por al menos un tercio de la longitud de la palea medida desde la base de la raquilla, con o sin arista.

29. Florete, con lema y palea que encierra una cariópside, además de lemas estériles adjuntas, con o sin arista.
Florete, con lema y palea que encierra una cariópside.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Phalaris: incluyendo sobresalientes anteras si presentes.

30. (Suprimido a partir del 1 de enero de 2012).

31. Florete, con lema y palea que encierra una cariópside, con o sin arista.
Pedazo de florete que contiene una cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Cariópside.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original.

32. (Suprimido a partir del 1 de julio de 1993; véase DSP 33).

33. Florete, con lema y palea que encierra una cariópside con o sin arista.
Festuca, Lolium, ×Festulolium: tamaño de la cariópside al menos un tercio de la longitud de la palea, medida desde la base de la raquilla.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
El florete puede ser con o sin adjunta de un solo florete fértil o estéril, siempre que el florete adjunto no se extienda a la punta del florete fértil, con exclusión de la arista (Fig. 3.1, 1–4).
Cuando se prescribe un método de soplado uniforme, consulte 3.5.2.5.

Unidades de semillas múltiples

Las unidades de semilla pueden consistir de espiguillas o partes de espiguillas con más de un florete. Tales estructuras con o sin glumas se llaman unidades de semillas múltiples (USM) cuando están formadas por las siguientes estructuras:

– florete fértil con un solo florete fértil o estéril adjunto que se extiende hasta o más allá de la punta del florete fértil, con exclusión de las aristas (Fig. 3.1, 8–12).
– de un flósculo fértil con dos o más floretes adjuntos fértiles o estériles de cualquier longitud (Fig. 3.1, 5–7).
– florete fértil con basalmente adjunto florete estéril o glumas de cualquier longitud (Fig. 3.1, 13–15).

USM se dejan intactos y se incluyen en la fracción de semilla pura. No obstante, el solicitante podrá pedir que se pesen y se reporte el porcentaje (see 3.5.2.6).
Solo para *Triticum dicoccon* y *Triticum spelta*: con o sin segmento de raquis adjunto.
En *Triticum dicoccon* y *Triticum spelta*, se pueden encontrar combinaciones de USM. En el análisis de pureza estas no deben ser separadas.
USM de *Avena* del tipo de estructura 13 (Fig. 3.1), donde el lema del florete basal envuelve el florete fértil interior, no necesitan ser reportadas como USM. Todas las demás estructuras (Fig. 3.1, 5-12, 14-15) han de considerarse USM.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

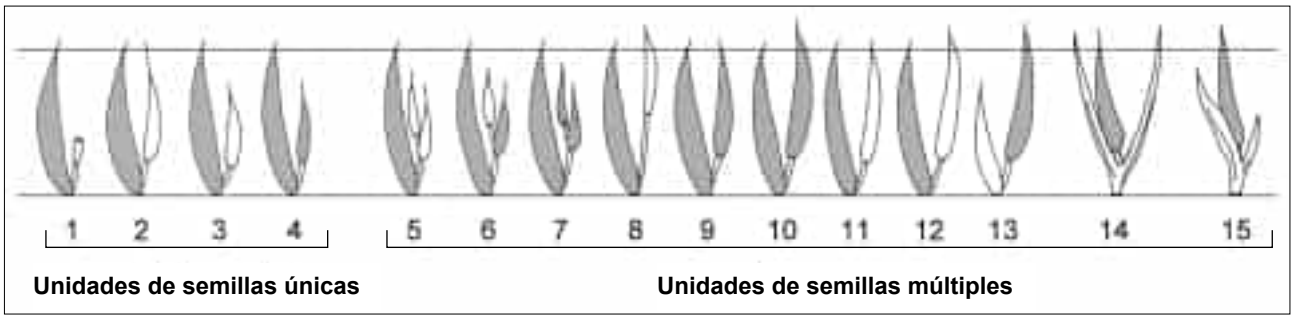


Figura 3.1. Clasificación de las unidades de semillas únicas y múltiples. La parte sombreada representa floretes fértiles y la porción clara floretes estériles.

34. Espiguilla, con glumas, lema y palea que encierra una cariópside, con o sin arista.
    Florete, con lema y palea que encierra una cariópside, con o sin arista.
    Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    Alopecurus: palea ausente
.
35. Espiguilla, con lema y palea que encierra una cariópside, más un florete estaminad unido, con o sin arista.
    Florete, con lema y palea que encierra una cariópside, con o sin arista.
    Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    Holcus: espiguilla con glumas, lema y palea que encierra una cariópside, más un florete estaminado unido, con o sin arista.

36. Espiguilla, con o sin pedúnculo, con glumas, lema y palea que encierra una cariópside, además un lema estéril adjunto.
    Florete, con lema y palea que encierra una cariópside. Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    Axonopus: espiguilla, con una sola gluma, lema y palea que encierra una cariópside, además lema estéril adjunto.
    Echinochloa y *Melinis*: lema estéril adjunto con o sin arista.
    Panicum y *Digitaria*: no hay necesidad de verificar la presencia de una cariópside.

37. Espiguillas (una * fértil, dos estériles) encerradas en un involucro semejante a un talón.
    Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    * La espiguilla fértil consiste en glumas, lema y palea que encierran una cariópside, más un lema estéril unido.

38. Espiguilla, con glumas, lema y palea que encierran una cariópside, incluyendo la arista independientemente de su tamaño. Florete, con o sin lemas estériles, con lema y palea que encierran una cariópside, incluyendo la arista independientemente de su tamaño.
    Florete con lema y palea que encierran una cariópside, incluyendo el arista independientemente de su tamaño.
    Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    Las semillas con aristas más largas que la longitud del florete son indicadas de acuerdo con 3.7 (véase también 3.5.2.8).

39. Espiguilla, con una sola gluma *, lema y palea que encierran una cariópside.
    Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
    * Primera gluma ausente, segunda gluma envolviendo la delgada lema y palea completamente, la palea a veces obsoleta.

40. Cariópside.
    Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

41. Espiguilla, con lema y palea que encierran una cariópside, con o sin arista, además un florete estéril adjunto.
Florete, con lema y palea que encierran una cariópside, con o sin arista.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Astrebla: Espiguilla y florete con o sin cariópside. Cuando se prescribe un método de soplado uniforme (*Poa pratensis, P. trivialis*) véase 3.5.2.5.

42. Espiguilla, con glumas envolvente una cariópside con o sin palea hialina o lemas, segmento (s) raquis, pedicelo (s), arista (s), florete (s) estéril o fértil que se adjunta.
Florete, con lema y palea, con o sin arista.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Bouteloua, Chloris: no es necesario comprobar la presencia de una cariópside.

43. Fascículo o rebaba con involucro de cerdas y espiguillas de 1-5, cada comprendendo glumas, lema y palea que encierran una cariópside, además lema estéril adjunto.
Florete, con lema y palea que encierran una cariópside.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Cenchrus: rebaba o fascículo, con o sin cariópside.

44. (Suprimido a partir del 1 de julio de 1993; véase DSP 42).

45. (Suprimido a partir del 1 de julio de 1993; véase DSP 42).

46. Agrupación, o pieza de agrupación, con o sin tallo, con o sin trozos de hoja, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semillas más grande que la mitad de su tamaño original con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado. Agrupaciones con trozos de tallo o hoja que sobresale mas que la mayor dimensión de la agrupación, se reportan de acuerdo con 3.7 (véase también 3.5.2.8).

47. Semillas, sin alas o integumento, siempre que una parte de la testa esté adjunta.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, sin ala o integumento, siempre que una parte de la testa esté unida.
(Integumento) se refiere al tejido que une el ala a la semilla. En Pinaceae con DSP 47, el integumento no está íntimamente asociado con la semilla y es por lo general removido durante el procesamiento, eliminando así el ala. Sin embargo, si un integumento (con o sin ala) todavía está unido a la semilla durante el análisis de pureza, dichas semillas se considerarán como (semillas aladas) y se deben dejar intactas; ni el ala ni el integumento deben quitarse deliberadamente. Semillas con alas (es decir, la semilla con un integumento adjunto con o sin un ala de cualquier tamaño) deben ser pesadas y se expresan como un porcentaje separado de (semilla pura) de acuerdo con los párrafos 3.5.2.9 y 3.7. Después de pesar, la semilla alada y fracciones de semillas puras se recombinan y se utilizan en proporciones representativas para contar las réplicas de germinación.

48. Semilla, con o sin ala (s) a menos que sea obvio que ningún embrión esté presente, con o sin la testa.
Pedazo de semillas más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ningún embrión esté presente, con o sin la testa.
Las semillas son normalmente aladas, no se pesan por separado y son por lo tanto semilla pura.

49. Semilla, con o sin ala (s), a condición que una porción de la testa esté adjunta.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una porción de la testa esté adjunta.
Las semillas son normalmente aladas, no se pesan por separado y son por lo tanto semilla pura.

50. Semilla, a condición que una parte de la testa esté unida, con o sin arilo.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, a condición que una parte de la testa esté unida.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

51. Semilla, sin alas, con (pero de vez en cuando sin) integumento, siempre que una parte de la testa esté adjunta. Pedazo de semillas más grande que la mitad del tamaño original, sin alas, con (pero de vez en cuando sin) integumento, siempre que una parte de la testa esté adjunta. (Integumento) se refiere al tejido que une el ala a la semilla. En *Pinaceae* con DSP 51, el integumento se fusiona o íntimamente se asocia con la semilla, rara vez se elimina en el procesamiento y es consistentemente imposibles de quitar sin causar daños. Por lo tanto, las semillas fusionadas o íntimamente unidas con el integumento asociado son consideradas como (semilla pura). Semillas con alas (es decir, la semilla con su cubierta más ala todavía unida) deben ser pesadas y se expresan como un porcentaje separado de (semilla pura) de acuerdo con los párrafos 3.5.2.9 y 3.7. Después de pesar, la semilla alada y fracciones de semillas puras se recombinan y se utilizan en proporciones representativas para contar las repeticiones para la germinación.

52. Samara (fruto con ala), con o sin ala (s).
Pedazo de samara más grande que la mitad del tamaño original. Semillas con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado. Samaras normalmente llevan alas, no se pesan por separado y están clasificadas como semilla pura.

53. Samara (frutos alados), con o sin ala (s), con o sin estilos adjuntos.
Pedazo de samara más grande que la mitad del tamaño original. Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado. Samaras normalmente con alas, no se pesan por separado y por lo tanto son consideradas semilla pura.

54. Fruto con o sin cáliz.
Pieza de fruto, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con o sin la testa.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con o sin testa.

55. Drupa, que contiene un pireno (kernel, stone).
Pireno, a menos que sea obvio que ninguna semilla estépresente. Pedazo de pireno mayor que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla está presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.

56. Pireno (kernel, stone), a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de pireno mayor que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.

57. Nuez, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de nuez más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.

58. Nuez, con o sin pelos, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de nuez más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.

59. Nuez, con o sin perianto, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Pedazo de nuez más grande que la mitad del tamaño original, a menos que sea obvio que ninguna semilla esté presente.
Semillas, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.
Pedazo de semilla más grande que la mitad del tamaño original, con el pericarpio/testa total o parcialmente eliminado.

Tabla 3B Parte 2. Definiciones enumeradas de semilla pura (continuación)

60. Semilla, con o sin testa.
Pedazo de semilla de más de una mitad del tamaño original, con o sin testa.
En muchas especies de *Eucalyptus* es imposible diferenciar con certeza entre la semilla y ovulodes (= óvulos no fertilizados o inhibidos que no se convierten en semilla madura). En estos casos y a petición se puede seguir, también para las especies en las que uno puede hacer la distinción, un procedimiento simplificado que se describe en el Capítulo 13. En el Certificado se debe dar información adecuada sobre el método seguido.

61. Florete, con lema y palea que encierran una cariópside.
Cariópside, con o sin pericarpio.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original, con o sin pericarpio.

62. Florete, con lema y palea que encierran una cariópside, con o sin arista o con o sin segmento de raquis, independientemente de su longitud.
Pedazo de florete que contiene una cariópside mayor que la mitad del tamaño original.
Cariópside.
Pedazo de cariópside más grande que la mitad del tamaño original.
Floretes con arista o segmento de raquis más largo que la longitud del florete se reportan de acuerdo con 3.7 (véase también 3.5.2.8).

63. Bulbil.
Pedazo de bulbil más grande que la mitad del tamaño original.

Tabla 3B Parte 3. Glosario

ala una excrecencia membranosa plana de un fruto o semilla

antera la parte productora de polen de los estambres, soportadas en la parte superior del filamento o tallo

aquenio fruto seco, indehiscente, de una sola semilla, formado a partir de un solo carpelo libre (por ejemplo: *Ranunculaceae, Geum*) con la cubierta de la semilla distinta de la capa del fruto; de vez en cuando consta de más de un carpelo (*Asteraceae*)

arilo carnoso, a menudo colorado y cubriente o apéndice de una semilla que crece fuera del funículo o base del óvulo (véase también carúncula, estrófilo)

arista delgada, recta o cerda doblada. En las hierbosas: por lo general una continuación de la nervadura central de los lemas o de las glumas

bráctea hoja reducida o estructura semejante a una escala, la que subtiende una flor o una espiguilla hierbosa en su axila

bulbil un pequeño bulbo, generalmente axilar o que aparece en lugar de flores como en *Poa bulbosa*, también bulbillo

cáliz la envoltura floral externa compuesta de sépalos

capitulum una inflorescencia densa de flores generalmente sésiles.

cariópside fruto hierboso-desnudo en el que la testa se une con el pericarpio

carúncula pequeña excrecencia de la región micropilar (véase también arilo, estrófilo)

cerda pelo tieso; a veces aplicado a la parte superior de una arista, cuando esta última está doblada

clúster inflorescencia densamente apretada o, en la *Beta*, parte de una inflorescencia

drupa indehiscente, fruto de una sola semilla con endocarpio pedregoso y capas exteriores carnosas

embrión la joven planta encerrada en una semilla

espiguilla unidad de una inflorescencia de hierbosa que comprende uno o más floretes subtendida por una o dos glumas estériles. A los efectos de estas Reglas, el término espiguilla incluye, además de un florete fértil, ya sea uno o más floretes fértiles o completamente infértiles, o gluma

esquizocarpo un fruto seco que se separa en dos o más unidades (mericarpos) en la madurez

estaminado flor con estambres solamente

estéril sin órganos sexuales funcionales (por floretes de hierbosas: sin cariópside)

Tabla 3B Parte 3. Glosario (continuación)

estrófilo pequeño arilo, excrecencia semejante a una verruca (véase también arilo, carúncula)

fascículo un penacho de ramas surgentes de aproximadamente el mismo lugar

fértil con órganos sexuales funcionales; (por floretes de hierbosas: llevan una cariópside)

florete el lema y palea con adjuntos pistilo y estambres o la cariópside madura en *Poaceae*; a los efectos de las Reglas, el término florete se refiere al florete fértil con o sin lemas estériles adicionales

gluma una de las dos brácteas generalmente estériles en la base de una espiguilla en las hierbosas

hipantio similar a un anillo, en forma de copa o estructura tubular que rodea el ovario y en el que sépalos, pétalos y estambres son soportados

indehiscente que no se abre; frutos que no se abren en la madurez

integumento el sobre de un óvulo, que se convierte en la cubierta de la semilla o testa (generalmente dos tegumentos presentes). En las semillas de coníferas integumento también se refiere al tejido que une el ala a la semilla

involucelo un involucro secundario; a menudo alrededor de un racimo de flores

involucro anillo de brácteas o cerdas que rodean la base de una inflorescencia

lema la bráctea exterior (inferior) de una flor de hierbosas, a veces referida a la floración de la gluma o la palea inferior o externa. Bráctea que encierra la cariópside en el lado exterior (dorsal)

lóculo compartimento del ovario que contiene las semillas

mericarpo parte del esquizocarpo

nuececilla una pequeña nuez

palea la bráctea superior (interior) de un florete de una hierbosa, a veces llamada palea interior o superior. Bráctea que encierra la cariópside en la parte ventral interior

papus un anillo de pelos o escamas finas, a veces con plumas, coronando un aquenio

pedicelo el tallo de cada sola flor en una inflorescencia

pelo una excrecencia de la epidermis uni o pluricelular

periantio los dos sobres florales (cáliz y corola) o cualquiera de ellos

pericarpio (capa del fruto) la pared del ovario maduro o fruta

pico una larga prolongación, en forma de punta, del fruto

pireno semilla encerrada por el endocarpio duro de una drupa (o estructuras similares de frutos con varias semillas)

raquilla un raquis secundario. En particular, en las hierbosas, el eje que lleva el florete

raquis el eje principal de una inflorescencia

sésil sin tallo o pedúnculo

siliqua dehiscente, seco, fruto de dos válvulas derivadas de dos carpelos, por ejemplo: *Brassicaceae*

tallo el tallo de cualquier órgano de la planta

testa cubierta de la semilla

unidad de semilla comúnmente unidad de dispersión que se encontran, es decir aquenios y frutos similares, esquizocarpos, floretes, etc., tal como se define para cada género o especie en las Definiciones de Semilla Pura en Tabla 3B Partes 1 & 2

vaina fruto seco dehiscente, especialmente de *Fabaceae*

3.9 Tablas de tolerancias

Tabla 3C da tolerancias para comparar los resultados de pureza de los duplicados de las muestras de la misma muestra remitida analizada en el mismo laboratorio. Se puede utilizar para cualquier componente de un análisis de pureza. La tabla se utiliza introduciéndola en el promedio de los dos resultados de la prueba (columnas 1 y 2). La tolerancia apropiada se encuentra en una de las columnas de 3 a 6, determinadas en cuanto a si las semillas son brozosas o no brozosas y han sido analizado las muestras de trabajo enteras o las mitades.

Las tolerancias en las columnas 5 y 6 se extraen de Miles (1963), Tabla P11, columnas C y F, respectivamente, y redondeadas a un decimal. Las para la mitad de las muestras de trabajo, columnas 3 y 4, se calculan a partir de la Tabla P11, columnas C y F en Miles (1963) mediante la multiplicación con la raíz cuadrada de dos.

Tabla 3D da las tolerancias para los resultados de la pureza hechas en dos muestras diferentes remitidas cada una extraída del mismo lote y analizada en el mismo o en un laboratorio diferente. Se puede utilizar para cualquier componente de un análisis de pureza cuando el resultado de la segunda prueba es más pobre que el de la primera prueba. La tabla se utiliza introduciéndola en el promedio de los dos resultados de la prueba (columnas 1 y 2). La tolerancia apropiada se encuentra en las columnas 3 o 4, dependiendo si las semillas son brozosas o no brozosas.

Las tolerancias en las columnas 3 y 4 se extraen de las columnas D y G, respectivamente, de la Tabla P1 en Miles (1963).

Tabla 3E da las tolerancias para los resultados de la pureza hechas en dos muestras remitidas diferentes cada una extraída del mismo lote y analizadas en el mismo o en un laboratorio diferente. Se puede utilizar para cualquier componente de un análisis de pureza para decidir si dos estimaciones son compatibles. La tabla se utiliza introduciéndola en el promedio de los dos resultados de la prueba (columnas 1 y 2). La tolerancia apropiada se encuentra en las columnas 3 o 4, dependiendo si las semillas son brozosas o no brozosas.

Las tolerancias en las columnas 3 y 4 se extraen de las columnas D y G, respectivamente, de la Tabla P7 en Miles (1963).

Tabla 3C. Tolerancias para los análisis de pureza en la misma muestra remitida en el mismo laboratorio *(two-way test)* a nivel de significación del 5 %)

Promedio de los resultados de dos análisis		Tolerancias para las diferencias entre			
		Mitad muestras de trabajo		Muestras de trabajo enteras	
		Semillas brozosas			
		No	Sí	No	Sí
1	2	3	4	5	6
99,95–100,00	0,00–0,04	0,20	0,23	0,1	0,2
99,90–99,94	0,05–0,09	0,33	0,34	0,2	0,2
99,85–99,89	0,10–0,14	0,40	0,42	0,3	0,3
99,80–99,84	0,15–0,19	0,47	0,49	0,3	0,4
99,75–99,79	0,20–0,24	0,51	0,55	0,4	0,4
99,70–99,74	0,25–0,29	0,55	0,59	0,4	0,4
99,65–99,69	0,30–0,34	0,61	0,65	0,4	0,5
99,60–99,64	0,35–0,39	0,65	0,69	0,5	0,5
99,55–99,59	0,40–0,44	0,68	0,74	0,5	0,5
99,50–99,54	0,45–0,49	0,72	0,76	0,5	0,5
99,40–99,49	0,50–0,59	0,76	0,82	0,5	0,6
99,30–99,39	0,60–0,69	0,83	0,89	0,6	0,6
99,20–99,29	0,70–0,79	0,89	0,95	0,6	0,7
99,10–99,19	0,80–0,89	0,95	1,00	0,7	0,7
99,00–99,09	0,90–0,99	1,00	1,06	0,7	0,8
98,75–98,99	1,00–1,24	1,07	1,15	0,8	0,8
98,50–98,74	1,25–1,49	1,19	1,26	0,8	0,9
98,25–98,49	1,50–1,74	1,29	1,37	0,9	1,0
98,00–98,24	1,75–1,99	1,37	1,47	1,0	1,0
97,75–97,99	2,00–2,24	1,44	1,54	1,0	1,1
97,50–97,74	2,25–2,49	1,53	1,63	1,1	1,2
97,25–97,49	2,50–2,74	1,60	1,70	1,1	1,2
97,00–97,24	2,75–2,99	1,67	1,78	1,2	1,3
96,50–96,99	3,00–3,49	1,77	1,88	1,3	1,3
96,00–96,49	3,50–3,99	1,88	1,99	1,3	1,4
95,50–95,99	4,00–4,49	1,99	2,12	1,4	1,5
95,00–95,49	4,50–4,99	2,09	2,22	1,5	1,6
94,00–94,99	5,00–5,99	2,25	2,38	1,6	1,7
93,00–93,99	6,00–6,99	2,43	2,56	1,7	1,8
92,00–92,99	7,00–7,99	2,59	2,73	1,8	1,9
91,00–91,99	8,00–8,99	2,74	2,90	1,9	2,1
90,00–90,99	9,00–9,99	2,88	3,04	2,0	2,2
88,00–89,99	10,00–11,99	3,08	3,25	2,2	2,3
86,00–87,99	12,00–13,99	3,31	3,49	2,3	2,5
84,00–85,99	14,00–15,99	3,52	3,71	2,5	2,6
82,00–83,99	16,00–17,99	3,69	3,90	2,6	2,8
80,00–81,99	18,00–19,99	3,86	4,07	2,7	2,9
78,00–79,99	20,00–21,99	4,00	4,23	2,8	3,0
76,00–77,99	22,00–23,99	4,14	4,37	2,9	3,1
74,00–75,99	24,00–25,99	4,26	4,50	3,0	3,2
72,00–73,99	26,00–27,99	4,37	4,61	3,1	3,3
70,00–71,99	28,00–29,99	4,47	4,71	3,2	3,3
65,00–69,99	30,00–34,99	4,61	4,86	3,3	3,4
60,00–64,99	35,00–39,99	4,77	5,02	3,4	3,6
50,00–59,99	40,00–49,99	4,89	5,16	3,5	3,7

Tabla 3D. Tolerancias para los análisis de pureza en dos diferentes muestras remitidas del mismo lote cuando una segunda prueba se ha hecho en el mismo u otro laboratorio (*one way-test* con 1% nivel de significación)

Promedio de los resultados de dos ensayos		Tolérancia	
50–100 %	Menos que 50 %	Semillas no brozosas	Semillas brozosas
1	2	3	4
99,95–100,00	0,00–0,04	0,2	0,2
99,90–99,94	0,05–0,09	0,3	0,3
99,85–99,89	0,10–0,14	0,3	0,4
99,80–99,84	0,15–0,19	0,4	0,5
99,75–99,79	0,20–0,24	0,4	0,5
99,70–99,74	0,25–0,29	0,5	0,6
99,65–99,69	0,30–0,34	0,5	0,6
99,60–99,64	0,35–0,39	0,6	0,7
99,55–99,59	0,40–0,44	0,6	0,7
99,50–99,54	0,45–0,49	0,6	0,7
99,40–99,49	0,50–0,59	0,7	0,8
99,30–99,39	0,60–0,69	0,7	0,9
99,20–99,29	0,70–0,79	0,8	0,9
99,10–99,19	0,80–0,89	0,8	1,0
99,00–99,09	0,90–0,99	0,9	1,0
98,75–98,99	1,00–1,24	0,9	1,1
98,50–98,74	1,25–1,49	1,0	1,2
98,25–98,49	1,50–1,74	1,1	1,3
98,00–98,24	1,75–1,99	1,2	1,4
97,75–97,99	2,00–2,24	1,3	1,5
97,50–97,74	2,25–2,49	1,3	1,6
97,25–97,49	2,50–2,74	1,4	1,6
97,00–97,24	2,75–2,99	1,5	1,7
96,50–96,99	3,00–3,49	1,5	1,8
96,00–96,49	3,50–3,99	1,6	1,9
95,50–95,99	4,00–4,49	1,7	2,0
95,00–95,49	4,50–4,99	1,8	2,2
94,00–94,99	5,00–5,99	2,0	2,3
93,00–93,99	6,00–6,99	2,1	2,5
92,00–92,99	7,00–7,99	2,2	2,6
91,00–91,99	8,00–8,99	2,4	2,8
90,00–90,99	9,00–9,99	2,5	2,9
88,00–89,99	10,00–11,99	2,7	3,1
86,00–87,99	12,00–13,99	2,9	3,4
84,00–85,99	14,00–15,99	3,0	3,6
82,00–83,99	16,00–17,99	3,2	3,7
80,00–81,99	18,00–19,99	3,3	3,9
78,00–79,99	20,00–21,99	3,5	4,1
76,00–77,99	22,00–23,99	3,6	4,2
74,00–75,99	24,00–25,99	3,7	4,3
72,00–73,99	26,00–27,99	3,8	4,4
70,00–71,99	28,00–29,99	3,8	4,5
65,00–69,99	30,00–34,99	4,0	4,7
60,00–64,99	35,00–39,99	4,1	4,8
50,00–59,99	40,00–49,99	4,2	5,0

Tabla 3E. Tolerancias para los análisis de pureza en dos diferentes muestras remitidas del mismo lote cuando una segunda prueba se ha hecho en el mismo u otro laboratorio (*two way-test* con 1% nivel de significación)

Promedio de los resultados de dos ensayos		Tolérancia	
50–100 %	Menos que 50 %	Semillas no brozosas	Semillas brozosas
1	2	3	4
99,95–100,00	0,00–0,04	0,2	0,2
99,90–99,94	0,05–0,09	0,3	0,4
99,85–99,89	0,10–0,14	0,4	0,5
99,80–99,84	0,15–0,19	0,4	0,5
99,75–99,79	0,20–0,24	0,5	0,6
99,70–99,74	0,25–0,29	0,5	0,6
99,65–99,69	0,30–0,34	0,6	0,7
99,60–99,64	0,35–0,39	0,6	0,7
99,55–99,59	0,40–0,44	0,6	0,8
99,50–99,54	0,45–0,49	0,7	0,8
99,40–99,49	0,50–0,59	0,7	0,9
99,30–99,39	0,60–0,69	0,8	1,0
99,20–99,29	0,70–0,79	0,8	1,0
99,10–99,19	0,80–0,89	0,9	1,1
99,00–99,09	0,90–0,99	0,9	1,1
98,75–98,99	1,00–1,24	1,0	1,2
98,50–98,74	1,25–1,49	1,1	1,3
98,25–98,49	1,50–1,74	1,2	1,5
98,00–98,24	1,75–1,99	1,3	1,6
97,75–97,99	2,00–2,24	1,4	1,7
97,50–97,74	2,25–2,49	1,5	1,7
97,25–97,49	2,50–2,74	1,5	1,8
97,00–97,24	2,75–2,99	1,6	1,9
96,50–96,99	3,00–3,49	1,7	2,0
96,00–96,49	3,50–3,99	1,8	2,1
95,50–95,99	4,00–4,49	1,9	2,3
95,00–95,49	4,50–4,99	2,0	2,4
94,00–94,99	5,00–5,99	2,1	2,5
93,00–93,99	6,00–6,99	2,3	2,7
92,00–92,99	7,00–7,99	2,5	2,9
91,00–91,99	8,00–8,99	2,6	3,1
90,00–90,99	9,00–9,99	2,8	3,2
88,00–89,99	10,00–11,99	2,9	3,5
86,00–87,99	12,00–13,99	3,2	3,7
84,00–85,99	14,00–15,99	3,4	3,9
82,00–83,99	16,00–17,99	3,5	4,1
80,00–81,99	18,00–19,99	3,7	4,3
78,00–79,99	20,00–21,99	3,8	4,5
76,00–77,99	22,00–23,99	3,9	4,6
74,00–75,99	24,00–25,99	4,1	4,8
72,00–73,99	26,00–27,99	4,2	4,9
70,00–71,99	28,00–29,99	4,3	5,0
65,00–69,99	30,00–34,99	4,4	5,2
60,00–64,99	35,00–39,99	4,5	5,3
50,00–59,99	40,00–49,99	4,7	5,5

Capítulo 4: Determinación de otras semillas por número

4.1 Objeto

El objeto de la determinación es de estimar el número de semillas de otras especies conforme a lo requerido por el solicitante, ya sea en general (por ejemplo todas las demás especies) o por referencia a una categoría de semillas (por ejemplo especies clasificadas como nocivas en un determinado país), o en el especifico (por ejemplo *Elytrigia repens*).

En el comercio internacional este análisis se utiliza principalmente para determinar la presencia de semillas de especies nocivas o indeseables.

4.2 Definiciones

4.2.1 Otras semillas

Como define la Regla 3.2.2., otras semillas se refiere a especies distintas de las que se está haciendo el análisis.

Para determinar el número de otras semillas, se deben observar las definiciones prescritas en 3.2. La extensión de la determinación de otras semillas por número en una muestra de trabajo, es ya sea para todas las especies o para una selección de especies (véase 4.5.1).

Las determinaciones de la cantidad de semillas polvorientas de especies de la familia *Orobanchaceae*, como *Orobanche* o *Striga*, solamente se completan a petición del solicitante.

4.2.2 Análisis Completo

En un **análisis completo**, se examina todo el peso de la muestra de trabajo para las otras semillas presentes, a excepción de las especies de *Orobanche*. Las pruebas para las especies de *Orobanche* sólo se completan a petición del solicitante.

4.2.3 Análisis limitado

En un **análisis limitado**, se examina todo el peso de la muestra de trabajo, pero sólo para determinadas especies, conforme a lo solicitado por el domandante.

4.2.4 Análisis reducido

En un **análisis reducido** se examina, para otras semillas presentes, menos de todo el peso de la semilla de la muestra de trabajo, a excepción de las especies de *Orobanche*.

En el caso de semillas muy caras (véase 2.5.4.5), se puede realizar una prueba reducida.

4.2.5 Análisis reducido-limitado

En un **análisis limitado-reducido**, se examinan únicamente las especies indicadas en menos de todo el peso de la muestra de trabajo.

Si una especie bajo análisis es difícil de identificar, sólo necesita ser examinado un mínimo de una quinta parte del peso de la muestra de trabajo prescrita, es decir se puede realizar un analisis reducido-limitado.

4.3 Principios generales

La determinación se realiza mediante el recuento y se expresa como número de semillas que se encuentran en la cantidad examinada. Se permite reportar el nombre del género solamente cuando hay semillas que se encuentran y no se pueden identificar con certeza a nivel de especie.

4.4 Aparatos

Para ayudar al analista en el examen de la muestra y en la reducción del trabajo pueden ser utilizados cribas, sopladores y otros dispositivos mecánicos.

4.5 Procedimientos

4.5.1 Muestra de trabajo

a) El tamaño de la muestra de trabajo debe ser de peso estimado de contener al menos 25 000 unidades de semillas o no menos que el peso fijado en la Tabla 2A Parte 1, columna 5.
b) Si una especie bajo análisis es difícil de identificar, sólo necesita ser examinado un mínimo de una quinta parte del peso de la muestra de trabajo prescrito, es decir, se puede realizar un analisis reducido-limitado.

4.5.2 Determinación

La muestra de trabajo se inspecciona ya sea para las semillas de todas las otras especies o de ciertas especies indicadas, como solicitado por el domandante. Se cuenta de cada especie buscada el número de semillas que se encuentran.

Si la búsqueda se limita a ciertas especies indicadas, el examen se puede detener cuando se ha encontrado una o más semillas de una o de todas las especies indicadas (si corresponde a las necesidades del solicitante).

Las semillas de otras especies presentes deben ser retenidas y almacenada para referencia hasta la eliminación de la muestra (véase 2.5.3 y 2.5.4.7).

4.5.3 Determinación de especies de *Orobanche*

A petición del solicitante, se completará la determinación de la presencia de especies de *Orobanche*, permitiendo que se reporte el número de especies de *Orobanche* que se encuentra en un peso específico de una submuestra remitida.

4.5.3.1 Antecedentes

Orobanche spp. son parásitos de las raíces y pueden causar la reducción muy significativa en el rendimiento del cultivo de las plantas parasitadas. Los brotes de flores producen un gran número de semillas como muy polvorientas. Tamaño de la semilla, forma, color y marcas superficiales varían un poco según la especie de *Orobanche*, pero todas son básicamente similares. Las semillas de todas las especies de *Orobanche* son por lo general en forma de pera, largas menos de 0,5 mm, a menudo 0,2 a 0,3 mm de largo con una anchura menor, el ancho de la semilla varía según la especie y las semillas tienden a adherirse a las de los cultivos y otras superficies.

La determinación requiere un análisis microscópico de la muestra de trabajo y el reconocimiento visual de las especies de *Orobanche* por el analista. La muestra de trabajo se obtiene a partir de la muestra remitida o compuesta, ya sea por: a) lavado y filtración, o b) tamizado en seco. El laboratorio debe decidir sobre el método más apropiado a utilizar para obtener la muestra de trabajo, ambos se han demostrado ser satisfactorios, pero la eficacia puede variar según el tamaño de la semilla de las especies de cultivos bajo análisis. Para las especies de cultivos que tienen semillas muy pequeñas cualquiera de los métodos es difícil, pero cuando un lote de semillas es muy caro, o tiene que ser devuelto al cliente, entonces el método seco es más apropiado.

4.5.3.2 Submuestra remitida

La determinación de *Orobanche* requiere una submuestra remitida sellada y separada o la totalidad de la muestra compuesta para ser remitida. La submuestra remitida puede ser obtenida de la muestra compuesta por agitación de la muestra compuesta con una cuchara, tomando luego un mínimo de tres submuestras con una cuchara de diferentes posiciones y combinándolas para crear la submuestra de tamaño requerido. Si el conjunto de la muestra compuesta se remite, la submuestra remitida debe ser obtenida por el laboratorio a partir de la muestra compuesta.

El tamaño de la submuestra remitida debe ser de un peso estimado que contenga al menos 25.000 unidades de semillas o de no menos que el peso fijado en la Tabla 2A Parte 1, columna 5 (Otras semillas por número) para las especies de cultivos analizadas.

La submuestra remitida a análisis debe ser pesada en gramos al número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1.

4.5.3.3 Muestra de trabajo

La muestra de trabajo para el análisis visual para la presencia de especies de *Orobanche* se obtiene mediante: a) el lavado y la filtración o b) tamizando en seco todo el peso de la submuestra remitida.

a) Lavado y filtración
Toda la submuestra remitida se lava en agua con detergente, se filtra y el residuo se recoge en la superficie del filtro. La proporción entre el peso de la semilla y el volumen de agua debe ser de 1: 2, por ejemplo 250 g de semillas añadido a 500 ml de agua, que contiene una o dos gotas de tensioactivo. Grandes muestras remitidas pueden requerir el lavado de lotes pequeños, pero así toda la submuestra remitida está analizada.

b) Tamiz en seco
Toda la submuestra remitida se tamiza en (seco) usando un tamiz y una bandeja puesta inferiormente y que recoge lo que es sacudido por un agitador mecánico (por ejemplo el agitador Syntron) o manualmente. El diámetro del agujero en la pantalla-tamiz debe ser adecuado para retener la semilla en la parte superior y permitir que el material de polvo más fino pase a través hasta una bandeja de recogida, por ejemplo para *Trifolium pratense* el diámetro adecuado de la malla del tamiz (agujeros redondos) es de 0,5 mm. Otras combinaciones de tamices se pueden utilizar dependiendo del tamaño de la semilla que se está analizando.

Grandes muestras remitidas pueden requerir un tamizado de lotes pequeños para evitar la sobrecarga/tapón de los agujeros del colador. La dimensión de la carga en cada lote depende del tamaño de la semilla, del diámetro de los

tamices y del número de agujeros en cada centimetro cuadrado del tamiz. Para cada operación de tamizado la muestra debe agitarse durante al menos 1 minuto si se utiliza un agitador mecánico. Si el movimiento es manual, la muestra se debe agitar vigorosamente durante un período más largo hasta que el material más fino está totalmente separado. Se examina visualmente lo que se recoge de toda la muestra remitida en la bandeja inferior.

4.5.3.4 Análisis visual

Los analistas deben buscar las semillas de *Orobanche* en las superficies del filtro o de los tamices en seco, utilizando un microscopio con al menos 10 × de ampliación. Se determina el número de semillas de *Orobanche* presentes y se reporta de acuerdo con 4.7.

4.6 Cálculo y expresión de los resultados

El resultado se expresa como el número de semillas que pertenecen a cada especie o categoría indicadas y que se encuentran en la cantidad real examinada. Además se puede calcular el número por unidad de peso (por ejemplo por kilogramo).

Si se llevan a cabo una segunda o más pruebas sobre la misma muestra, el resultado debe ser expresado como el número total de semillas que se encuentran en el peso total examinado.

Para decidir si dos determinaciones, realizadas en el mismo laboratorio o en distintos laboratorios, son significativamente diferentes, utilice la Tabla 4A. Las dos muestras comparadas deben ser de aproximadamente del mismo peso.

4.7 Indicación de los resultados

El resultado de una determinación de otras semillas por número debe ser reportado bajo “Otras determinaciones” *(Other determinations)* en la siguiente forma:

– El peso real de las semillas examinadas al número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1.
– El nombre científico y el número de semillas de cada especie buscado y encontrado en este peso.
– Cuando no sea posible determinar con certeza sobre la base de características de las semillas, sólo se reporta el nombre del género (por ejemplo especies de *Malus*).
– Si se examina para el resto de las especies presentes el peso indicado en la Tabla 2A, junto con el peso de las semillas examinadas se debe introducir la frase (prueba completa).
– Si el examen era sólo para una gama limitada de otras especies, entonces se debe introducir la frase (Análisis limitado).
– Si el peso examinado para todas las demás especies fue menor que el peso establecido, entonces se debe introducir la frase (Análisis reducido).
– Si el peso analizado fue menor que el peso prescrito en la Tabla 2A y sólo se examinó una gama limitada de otras especies, entonces se debe introducir la frase (Análisis reducido-limitado).
– Si se examina una muestra de al menos 25 000 semillas y esta muestra estaba por debajo del peso prescrito en la table 2A, entonces hay que introducir el peso de las semillas examinadas y la declaración (Análisis basado en un mínimo de 25 000 semillas).

A petición, los resultados pueden además ser expresados de otra manera, como (peso de semillas encontradas) o (número de semillas por kilogramo).

Previa solicitud, la presencia de especies de *Orobanche* sólo puede ser reportada en un Certificado Azul Internacional de Muestra de Semillas (véase 1.2.2) y debe ser reportada como: Análisis de la presencia de especies de *Orobanche*: (... semillas de especies de *Orobanche* fueron encontradas en ... g de semillas examinadas).

Si no se encuentran semillas puede ser reportado como: (No fueron encontradas semillas de especies de *Orobanche* en ... g de semillas examinadas).

El peso de la muestra examinada debe ser reportado de acuerdo con el número mínimo de decimales indicados en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Número mínimo de cifras decimales para reportar los pesos de las muestras examinadas

Peso de la muestra (g)	Número mínimo de cifras decimales para reportar
Menor de 1,000	4
1,000–9,999	3
10,00–99,99	2
100,0–999,9	1
1000 o mayor	0

4.8 Tablas de tolerancia

Tabla 4A da la máxima diferencia en el número de otras semillas, utilizada para decidir si dos resultados del ensayo son compatibles. Los ensayos se deben realizar en la misma o diferente muestra remitida, en el mismo o en un laboratorio diferente. Ambas muestras tienen que ser de aproximadamente del mismo peso. La tabla se usa introduciéndola en el promedio de los dos resultados de análisis (columna 1) y la diferencia máxima tolerada se encuentra en la columna 2.

Las tolerancias se extraen de la tabla F1b (semillas extrañas) en Miles (1963):

Miles, S. R. (1963). Handbook of Tolerances and Measures of Precision for Seed Testing. *Proceedings of the International Seed Testing Association,* **28 (3)**, 644.

Tabla 4B da las tolerancias para el recuento del número de otras semillas, realizado en dos diferentes muestras remitidas cada una sacadas del mismo lote y analizadas en el mismo o en un laboratorio diferente. Ambas muestras son para ser de aproximadamente del mismo peso. La tabla se puede utilizar cuando el resultado del segundo ensayo es más pobre que el del primer ensayo. La tabla se usa introduciéndola en el promedio de los dos resultados de análisis (columna 1) y la diferencia máxima tolerada se encuentra en la columna 2.

Las tolerancias aparecieron en el Informe del *Rules Committee, International Seed Testing Association*:

ISTA (1962). Revision of *International Rules for Seed Testing. Proceedings of the International Seed Testing Association,* **27**, 291–304.

Tabla 4A. Tolerancia para la determinación de otras semillas por número cuando las pruebas se realizan con la misma o con una diferente muestra remitida y en el mismo o en un laboratorio diferente (*two-ways test* con nivel de significación del 5 %)

Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia	Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia	Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia
1	2	1	2	1	2
3	5	76–81	25	253–264	45
4	6	82–88	26	265–276	46
5–6	7	89–95	27	277–288	47
7–8	8	96–102	28	289–300	48
9–10	9	103–110	29	301–313	49
11–13	10	111–117	30	314–326	50
14–15	11	118–125	31	327–339	51
16–18	12	126–133	32	340–353	52
19–22	13	134–142	33	354–366	53
23–25	14	143–151	34	367–380	54
26–29	15	152–160	35	381–394	55
30–33	16	161–169	36	395–409	56
34–37	17	170–178	37	410–424	57
38–42	18	179–188	38	425–439	58
43–47	19	189–198	39	440–454	59
48–52	20	199–209	40	455–469	60
53–57	21	210–219	41	470–485	61
58–63	22	220–230	42	486–501	62
64–69	23	231–241	43	502–518	63
70–75	24	242–252	44	519–534	64

Tabla 4B. Tolerancias para la determinación de otras semillas por número cuando los análisis se realizan con diferentes muestras remitidas, sea que el segundo se realice en el mismo o en un laboratorio diferente (*one-way test* de ensayo con 5 % nivel de significación)

Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia	Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia	Promedio de los resultados de los dos análisis	Tolerancia
1	2	1	2	1	2
3–4	5	80–87	22	263–276	39
5–6	6	88–95	23	277–290	40
7–8	7	96–104	24	291–305	41
9–11	8	105–113	25	306–320	42
12–14	9	114–122	26	321–336	43
15–17	10	123–131	27	337–351	44
18–21	11	132–141	28	352–367	45
22–25	12	142–152	29	368–386	46
26–30	13	153–162	30	387–403	47
31–34	14	163–173	31	404–420	48
35–40	15	174–186	32	421–438	49
41–45	16	187–198	33	439–456	50
46–52	17	199–210	34	457–474	51
53–58	18	211–223	35	475–493	52
59–65	19	224–235	36	494–513	53
66–72	20	236–249	37	514–532	54
73–79	21	250–262	38	533–552	55

Capítulo 5: Análisis de germinación

5.1 Objeto

El objeto del análisis de germinación es determinar el potencial de germinación de un lote de semillas que puede, a su vez, se utilizado para comparar la calidad de los distintos lotes y también estimar el valor de la siembra en el campo.

Las prueba en campo es normalmente insatisfactoria, ya que los resultados no se pueden repetir con fiabilidad. Por lo tanto los métodos de laboratorio han evolucionado de manera que se controlen las condiciones externas para dar la germinación más regular, rápida y completa para la mayoría de las muestras de una singular especie. Las condiciones son estandarizadas para que los resultados de los análisis que se reproducen dentro de los límites estén lo más cerca posible a los determinados por la variación aleatoria de la muestra.

Más información sobre la germinación se puede encontrar en el corriente Manual ISTA de Evaluación de las Plántulas (*ISTA Handbook on Seedling Evaluation)*.

5.2 Definiciones

5.2.1 Germinación

La germinación de una semilla en un análisis ISTA es el surgimiento y desarrollo de la plántula a una etapa en la que el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no es capaz de desarrollarse en una planta satisfactoria en condiciones favorables en el campo.

5.2.2 Análisis doble

Un análisis es doble cuando se prescriben, para ciertas especies de árboles y arbustos de semillas, dos pruebas y son reportados los resultados de ambas pruebas.

5.2.3 Análisis paralelo

Análisis paralelo son donde se aplica al mismo tiempo más de un método de ensayo de las prescritas a una muestra y son reportados los mejores resultados.

5.2.4 Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación reportado en el Certificado ISTA indica la proporción en número de semillas que han producido plántulas clasificadas como normales en las condiciones y dentro del período establecido en la Tabla 5A, es decir, el porcentaje de plántulas normales.

5.2.5 Estructuras esenciales de las plántulas

Una plántula, dependiendo de la especie que se está analizando, se compone de una combinación específica de algunas de las estructuras siguientes que son esenciales para el desarrollo satisfactorio de una planta:

- sistema de raíces (raíz primaria; en ciertos casos raíces seminales);
- eje del brote (hipocótilo, epicótilo, en ciertas *Poaceae* mesocótilo; yema terminal);
- cotiledones (de uno a varios);
- coleóptilo (en todas las *Poaceae*).

Para más detalles, véase 5.2.11.

5.2.6 La regla del 50 %

La regla del 50 % se utiliza en la evaluación de los cotiledones y hojas primarias.

Tejido del cotiledón:

- las plántulas se consideran normales, siempre y cuando la mitad o más del tejido total de los cotiledones sea funcional;
- las plántulas son anormales cuando falta más de la mitad del tejido del cotiledón, está necrótico, deteriorado o descolorido.

Hojas primarias:

- las hojas primarias deben ser evaluadas en especies tales como *Phaseolus*;
- las plántulas se consideran normales, siempre y cuando la mitad o más del tejido de la hoja primaria es funcional;
- las plántulas son anormales cuando falta más de la mitad del tejido de la hoja principal, es necrótico, deteriorado o descolorado.

La regla del 50 % no se aplica si los dos puntos de unión de los cotiledones al eje de las plántulas o la propia yema terminal son necróticos o deteriorados; dichas plántulas son anormales independientemente de la condición de los cotiledones u hojas primarias. No se aplica también si un punto de unión de un cotiledón es necrótico o deteriorado y si el otro cotiledón no está intacto; tales plantas también son consideradas como anormales.

Más detalles sobre cómo aplicar la regla del 50 % se puede encontrar en *ISTA Handbook on Seedling Evaluation.*

5.2.7 Plántulas normales

Las plántulas normales muestran potencial de desarrollo continuo en plantas satisfactorias cuando se cultivan en tierra de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Para ser clasificada como normal una plántula debe cumplir con una de las siguientes categorías:

plántulas intactas: plántulas con todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas, en proporción y con buena salud;

plántulas con defectos leves: plántulas que muestran ciertos defectos leves de sus estructuras esenciales, siempre que muestren un desarrollo satisfactorio y equilibrado de otro modo comparable al de las plántulas intactas de la misma prueba;

plántulas con infección secundaria: plántulas que es evidente habrían conformado con uno de los anteriores, pero que se han visto afectados por hongos o bacterias procedentes de fuentes distintas de la semilla madre.

5.2.7.1 Plántulas intactas

Una plántula intacta, dependiendo de la especie que se está analizando, muestra una combinación específica de algunas de las siguientes estructuras esenciales:

a) un **sistema radicular** bien desarrollado, que consiste en:
   - una larga y delgada **raíz primaria**, generalmente cubierta con numerosos pelos radiculares y que termina en una punta fina;
   - **raíces secundarias** cuando se producen dentro del período de análisis prescrito;
   - varias **raíces seminales** en lugar de una raíz primaria en ciertos géneros, incluyendo *Avena, Hordeum, Secale, Triticum, ×Triticosecale, Cyclamen*;

b) un **eje del brote** bien desarrollado, que consiste en:
   - un **hipocótilo** recto y por lo general esbelto y alargado en las plántulas que muestran germinación epigeal;
   - un **epicótilo** bien desarrollado en las plántulas que muestran germinación hypogeal;
   - un **hipocótilo** alargado y un **epicótilo** en algunos géneros con germinación epigeal;
   - un **mesocótilo** alargado en ciertos géneros de *Poaceae*;

c) un número específico de **cotiledones**, es decir:
   - **un** cotiledón en monocotiledóneas o excepcionalmente en dicotiledóneas (puede ser verde y semejante a una hoja o modificado y que queda total o parcialmente dentro de la semilla);
   - **dos** cotiledones en dicotiledóneas (en especies con la germinación epigeal: verdes y semejantes a una hoja, de tamaño y forma variable con la especie que se está analizando; en plántulas con la germinación hypogeal: semiesféricos y carnosos y que permanecen dentro del tegumento);
   - un **número variable** de cotiledones (2-18) en las coníferas (generalmente verdes, largos y estrechos);

d) hojas verdes primarias en expansión:
   - **una** hoja primaria, a veces precedida por unas pocas hojas-escama en plántulas con hojas alternadas, o
   - **dos** hojas primarias en plántulas con hojas opuestas;

e) un **brote terminal** o el **ápice del brote**, el desarrollo de los cuales varía con las especies que se están analizando;

f) un bien desarrollado, recto **coleóptilo** en *Poaceae*, que contiene una hoja verde que se extiende hasta la punta y, finalmente, emerge a través de él;

g) en plántulas de especies arbóreas con germinación epigeal: cuando la raíz primaria y hipocótilo juntos superan cuatro veces la longitud de la semilla, a condición que todas las estructuras que se han desarrollado, están intactas.

5.2.7.2 Defectos leves

Los siguientes defectos se consideran ligeros y por lo tanto las plántulas se clasifican como normales:

- raíz primaria con daños limitados (por ejemplo que no afecta el tejido conductor) o un ligero retraso en el crecimiento;
- raíz primaria defectuosa pero con raíces secundarias suficientemente bien desarrolladas (en géneros específicos de *Fabaceae*, especialmente géneros con semilla grande como *Phaseolus, Pisum* y *Vicia*, y *Poaceae*, por ejemplo *Zea*, y en todos los géneros de las *Cucurbitaceae*, por ejemplo *Cucumis, Cucurbita* y *Citrullus* y *Malvaceae*, por ejemplo *Gossypium*; para obtener una lista completa consulte el *ISTA Handbook on Seedling Evaluation*);
- sólo una fuerte raíz seminal en *Avena, Hordeum, Secale, Triticum* y *× Triticosecale*, y dos en *Cyclamen;*
- hipocótilo, epicótilo o mesocótilo con daños limitados (por ejemplo que no afectan el tejido conductor);
- cotiledones con daño limitado (si la mitad o más de la superficie total del tejido deja de funcionar normalmente [es decir, la regla del 50 %, véase 5.2.6] y si no hay evidencia de daño o deterioro al ápice del brote o a los tejidos circundantes);
- sólo un cotiledón normal en la dicotiledóneas (si no hay evidencia de daño o deterioro al ápice del brote o de los tejidos circundantes);
- tres o más cotiledones en lugar de dos (siempre que cumplan con la regla del 50 %; véase 5.2.6);
- cotiledones fusionados (siempre que cumplan con la regla del 50 %; véase 5.2.6);
- hojas primarias con daño limitado (si la mitad o más de la superficie total del tejido deja de funcionar normalmente [la regla del 50 %; véase 5.2.6]);
- sólo una hoja primaria normal, por ejemplo en *Phaseolus* (si no hay evidencia de daño o deterioro de la yema terminal);

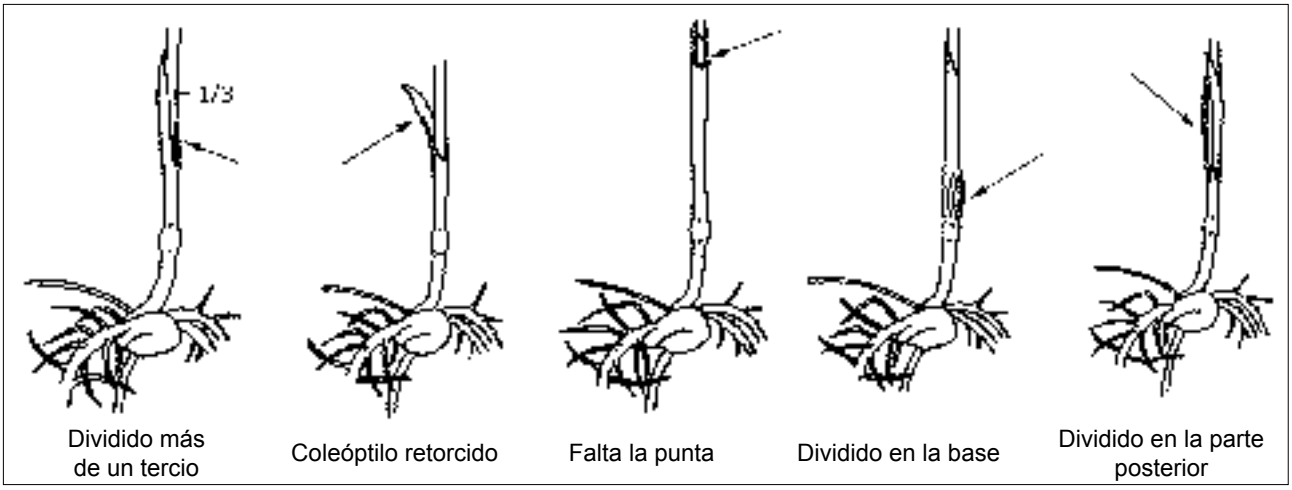


Figura 5.1. Evaluación de las plántulas de maíz con defectos en los coléoptilos. Las plántulas son normales si la hoja primaria está intacta o sólo ligeramente dañada, tal como se define en la Figura 5.2. Las plántulas son anormales si la hoja principal está dañada, tal como se define en la Figura 5.2.

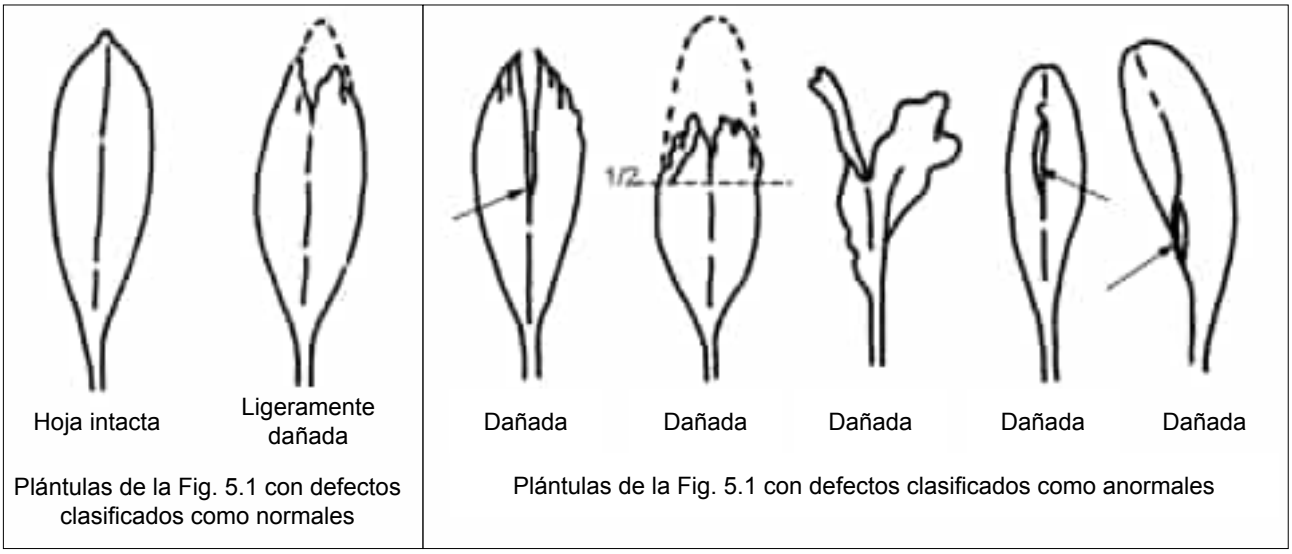


Figura 5.2. Evaluación de las plántulas de maíz con defectos en los coléoptilos. Definición de hoja primaria intacta, ligeramente dañada y dañada.

- hojas primarias de *Phaseolus* correctamente formadas, pero de tamaño reducido, siempre y cuando son más grandes que un cuarto del tamaño normal;
- tres o más hojas primarias en lugar de dos, por ejemplo en *Phaseolus* (siempre que cumplan con la regla del 50 %, véase 5.2.6);
- coleóptilo con daño limitado;
- coleóptilo con una división de la punta que se extiende hacia abajo no más de un tercio de la longitud (por *Zea mays*; plántulas con defectos de coléoptilos descritas en la Figura 5.1 pueden ser clasificadas como normales si la primera hoja está intacta, o sólo ligeramente dañada, como se define en Figura 5.2);
- coleóptilo flojamente retorcido o que forma un bucle (porque está atrapado bajo el lema y palea o tegumento);
- coleóptilo con una hoja verde que no se extiende hasta la punta, pero llega al menos a mitad del coleóptilo.

5.2.7.3 Infección secundaria

Las plántulas que están seriamente deterioradas por hongos o bacterias, se clasifican como normales, si es evidente que las semillas de las que proceden no son la fuente de la infección y si se puede determinar que todas las estructuras esenciales estaban presentes.

5.2.8 Plántulas anormales

Plántulas anormales no muestran el potencial de convertirse en una planta normal cuando se cultivan en tierra de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Las siguientes plantas se clasifican como anormales:

dañadas: plántulas con cualquiera de las estructuras esenciales que faltan o tan mal e irreparablemente dañadas que no se puede esperar un desarrollo equilibrado;

deformadas o desequilibradas: plántulas con desarrollo débil o alteraciones fisiológicas o en las que las estructuras esenciales se deforman o están fuera de proporción;

deterioradas: plántulas con cualquiera de sus estructuras esenciales tan enfermas o deterioradas como resultado de una infección primaria (véase 5.2.11), que impiden el desarrollo normal.

5.2.8.1 Anomalías de las plántulas

Uno o más de los siguientes defectos hace que la plántula sea anormal.

0 Anomalías generales
00 La plántula:
- 00/01 está deformada
- 00/02 está fracturada
- 00/03 suelta los cotiledones del tegumento antes de la raíz primaria
- 00/04 consta de plántulas individuales fusionadas
- 00/05 lleva un collar al endospermo
- 00/06 está de color amarillo o blanco
- 00/07 está larguirucha
- 00/08 está vidriosa
- 00/09 se ha deteriorado como resultado de una infección primaria
- 00/10 muestra síntomas fitotóxicos
- 00/11 está desequilibrada
- 00/12 en *Poaceae*, endospermo separado

1 Anormalidades del sistema radicular
11 La raíz primaria:
- 11/01 se atrofia
- 11/02 está rechoncha
- 11/03 se retarda
- 11/04 falta
- 11/05 está profundamente agrietada o rota
- 11/06 se divide de la punta o justo a través
- 11/07 está atrapada en el tegumento de la semilla
- 11/08 muestra geotropismo negativo
- 11/09 está constreñida
- 11/10 está larguirucha
- 11/11 está vidriosa
- 11/12 está deteriorada como resultado de una infección primaria

Nota: raíces secundarias que muestran uno o más de los defectos anteriores son anormales y no pueden sustituir a una raíz primaria anormal en los casos en que la presencia de varias raíces secundarias (por ejemplo *Cucumis*) determina el valor de una plántula.

12 Las raíces seminales:
- 12/01 están retrasadas en el crecimiento
- 12/02 están rechonchas
- 12/03 están retrasadas
- 12/04 faltan
- 12/05 enseñan geotropismo negativo
- 12/06 están vidriosas
- 12/07 están deterioradas como resultado de una infección primaria

Nota: al menos una fuerte raíz seminal (por ejemplo *Triticum*), o dos raíces seminales fuertes (es decir *Cyclamen*) son necesarios para una plántula normal.

2 Anomalías del sistema del brote
21 El hipocótilo, epicótilo o mesocótilo:
- 21/01 está corto y grueso (excepto *Cyclamen*)
- 21/02 no forma un tubérculo (sólo en *Cyclamen*)
- 21/03 está profundamente agrietado o roto
- 21/04 está dividido justo a través
- 21/05 falta
- 21/06 se dobla o forma un bucle
- 21/07 forma una espiral
- 21/08 está fuertemente torcido
- 21/09 está constreñido
- 21/10 está larguirucho
- 21/11 está vidrioso
- 21/12 está deteriorado como resultado de una infección primaria
- 21/13 muestra fototropismo negativo

22 La yema terminal y los tejidos circundantes:
- 22/01 se deforman
- 22/02 están dañados
- 22/03 faltan
- 22/04 están necróticos
- 22/05 están deteriorados como resultado de una infección primaria

Nota: independientemente de la presencia de yemas auxiliares (por ejemplo *Phaseolus*) o brotes auxiliares (por ejemplo *Pisum*) que surgen de las axilas de los cotiledones o de las hojas primarias, la plántula se considera anormal si el brote principal no se desarrolla normalmente.

3 Anomalías de los cotiledones y hojas primarias
31 Los cotiledones (bajo la regla del 50 %, véase 5.2.6):
- 31/01 están hinchados o enroscados
- 31/02 se deforman
- 31/03 están rotos o dañados

31/04 están separados o desaparecidos
31/05 están decolorados o necróticos
31/06 están vidriosos
31/07 están deteriorados como resultado de una infección primaria
31/08 están fusionados en ambos lados

Nota: Los daños o deterioro de los cotiledones en los dos puntos de anclaje de los cotiledones al eje de las plántulas o cerca de la yema terminal hacen una plántula anormal, independientemente de la regla del 50 %. La regla del 50 % tampoco se aplica si un punto de unión de un cotiledón es necrótico o deteriorado y el otro cotiledón no está intacto; tales plántulas también son consideradas como anormales.

32 En *Allium* spp., el cotiledón:
32/01 está corto y grueso
32/02 se dobla o forma un bucle
32/03 forma una espiral
32/04 no muestra una "rodilla" definitiva
32/05 está constreñido
32/06 está larguirucho

33 Las hojas primarias (bajo la regla del 50 %, véase 5.2.6):
33/01 se deforman
33/02 están dañadas
33/03 faltan
33/04 se decoloran
33/05 están necróticas
33/06 están de forma normal, pero menos de un cuarto del tamaño normal (sólo en *Phaseolus*)
33/07 están deterioradas como resultado de una infección primaria

4 Anomalías del coleóptilo y de la hoja principal:
41 El coleóptilo:
41/01 está rechoncho o de otra manera deformado
41/02 se rompe
41/03 falta
41/04 está defectuoso o no tiene la punta
41/05 está fuertemente encorvado o forma un bucle
41/06 forma una espiral
41/07 está fuertemente torcido
41/08 se divide por más de un tercio de la longitud de la punta
41/09 está larguirucho
41/10 está debilitado como resultado de una infección primaria
41/11 se divide en más partes que esa de la punta
41/12 está atrapado bajo el lema o la testa

Nota: una plántula, con su coleóptilo atrapado bajo el lema o el tegumento de la semilla, se considera normal si el desarrollo es por lo demás normal. Debe ser evaluada como anormal si el crecimiento de tal plántula se atrofia.

Nota: para *Zea mays* solamente: la plántula es anormal si el coleóptilo tiene cualquiera de los siguientes defectos junto con el daño a la hoja primaria tal como se define en la figura 5.1:

1 si la hoja primaria ha surgido en el momento de la evaluación:
a. coleóptilo dividido por más de un tercio de la longitud a partir de la punta
b. coleóptilo fuertemente encorvado
c. punta del coleóptilo dañada o desaparecida
d. coleóptilo dividido en cualquier lugar debajo de la punta

2 si la hoja primaria no ha surgido en el momento de la evaluación:
a. punta de coleóptilo dañada o desaparecida
b. coleóptilo dividido por más de un tercio de la longitud a partir de la punta
c. hoja que sobresale por debajo de la punta del coleóptilo

42 La hoja principal:
42/01 se extiende menos de la mitad del coleóptilo
42/02 falta
42/03 se tritura o de otra manera deformada
42/04 sobresale de la parte inferior del coleóptilo
42/05 es de color amarillo o blanco (sin clorofila)
42/06 está deteriorada como resultado de una infección primaria

5.2.9 Unidades de semillas multigermen

Varios tipos de unidades de semillas pueden producir más de una plántula:
– unidades que contienen más de una verdadera semilla (por ejemplo: unidades de semillas múltiples en *Dactylis, Festuca,* × *Festulolium* y *Lolium*; esquizocarpos no separados de *Apiaceae*; racimos de *Beta vulgaris* y frutos de *Tectona grandis*);
– semillas verdaderas que contienen más de un embrión. Esto puede ocurrir normalmente en ciertas especies (poliembrionía) o excepcionalmente en otras especies (gemelos). En este caso, frecuentemente una de las plántulas es débil o delgada, pero de vez en cuando ambas son de tamaño casi normal;
– embriones fusionados. De vez en cuando dos plántulas, que están fusionadas juntas, se producen a partir de una semilla.

Cuando una unidad produce más de una plántula, éstas se evalúan por separado. Una plántula normal se considera suficiente para clasificar la unidad como normal. Si una unidad produce más de una plántula normal, sólo una se cuenta para la determinación del porcentaje de germinación.

5.2.10 Semillas no germinadas

Cuando se ensaya en las condiciones dadas en Tabla 5A, las semillas que no han germinado por el final del periodo de análisis, se clasifican como sigue:

semillas duras: las semillas que se mantienen duras al final del período de análisis, porque no han absorbido el agua;

semillas frescas: las semillas, excepto las semillas duras, que debido a la inactividad no han podido germinar en las condiciones del análisis de germinación, pero permanecen limpias y firmes y tienen el potencial de convertirse en una de las plántulas normales;

semillas muertas: las semillas, que al final del período de análisis no son ni duras ni frescas ni han producido cualquier parte de una plántula;

otras categorías: en algunas circunstancias semillas vacías y sin germinar pueden clasificarse adicionalmente de acuerdo con las clases descritas en 5.2.10.4.

5.2.10.1 Semillas duras

La dureza seminal es una forma de dormancia. Es común en muchas especies de *Fabaceae*, pero también puede ocurrir en otras familias. Estas semillas no son capaces de absorber agua en las condiciones establecidas en la Tabla 5A y permanecen duras.

5.2.10.2 Semillas frescas

Las semillas frescas son capaces de absorber agua cuando se les proporciona las condiciones establecidas en la Tabla 5A, pero el proceso de germinación se bloquea.

5.2.10.3 Semillas muertas

Semillas muertas absorben agua, suelen ser suaves o descoloridas o frecuentemente mohosas y no muestran signos de desarrollo en plántula.

5.2.10.4 Otras categorías

Las semillas no germinadas pueden subdividirse en:

semillas vacías: semillas que están completamente vacías o contienen sólo un poco de tejido residual;

semillas sin embrión: semillas que contienen endospermo fresco o tejido gametofítico en el que aparentemente no hay cavidad embrionaria ni de embriones;

semillas dañadas por insectos: semillas que contienen larvas de insectos, excremento, o muestran otras evidencias de ataques de insectos que afectan la capacidad de la semilla para germinar.

Estas categorías pueden aparecer en todas las especies de semillas, pero se encuentran con más frecuencia en las especies de árboles.

5.2.11 Definiciones adicionales

ápice del brote porción terminal del brote, que contiene el punto de crecimiento principal

coleóptilo la vaina envolvente y que protege el ápice del eje del embrión y plántulas jóvenes en ciertas monocotiledóneas (por ejemplo *Poaceae*)

cotiledón la primera hoja o un par de hojas de un embrión y plántula (véase **hoja primaria**)

decaimiento descompostura de tejido orgánico, generalmente asociado con la presencia de microorganismos

decoloración alteración o pérdida de color

dicotiledóneas un grupo de plantas así clasificado porque el embrión por lo general tiene dos cotiledones (véase **monocotiledóneas**)

embrión planta rudimentaria contenida en una semilla, por lo general consiste en un eje más o menos diferenciado y cotiledón(es) adjunto(s)

endosperma tejido nutritivo procedentes de la fertilización y retenido en la madurez en algunas semillas como un tejido de almacenamiento de reservas de alimentos

enferma que muestra el efecto de la presencia y la actividad de microorganismos o de deficiencia química

epicótilo la parte del eje de las plántulas inmediatamente por encima de los cotiledones y por debajo de la hoja primaria o par de hojas

escutelo estructura en forma de escudo que es parte del cotiledón en algunas *Poaceae* y a través del cual los nutrientes se absorben del endospermo en el embrión)

estructura a bucle estructura de la plántula (por ejemplo hipocótilo, coleóptilo) que completa un bucle o un círculo en lugar de ser más o menos recta

estructura retorcida estructura de la plántula (por ejemplo hipocótilo, coleóptilo), que se retuerce alrededor de su eje principal de elongación

retorcida imprecisamente espiras realizadas sin apretar sobre un largo tramo de la estructura

retorcida fuertemente espiras realizadas sobre una sección corta de la estructura

fitotóxico venenoso para las plantas.

fototropismo crecimiento y respuesta a un estímulo luminoso

fototropismo positivo crecimiento hacia la luz
fototropismo negativo crecimiento lejos de la luz

geotropismo crecimiento de la planta como reacción a la gravedad
geotropismo positivo crecimiento hacia el bajo (por ejemplo raíz primaria normal)
geotropismo negativo crecimiento hacia el alto (por ejemplo brote normal)

germinación epigea tipo de germinación en la que los cotiledones y el brote se llevan sobre el nivel del suelo por elongación del hipocótilo (véase **germinación hipogea**)

germinación hipogea tipo de germinación en la que el cotiledón(s) o estructura comparable (por ejemplo escutelo) permanece en el suelo y dentro de la semilla. El brote se lleva sobre el nivel del suelo por elongación del epicótilo en las dicotiledóneas, o por el mesocótilo en algunas monocotiledóneas (véase **germinación epigea**)

hipocótilo parte del eje de plántulas inmediatamente por encima de la raíz primaria y por debajo de los cotiledones

hoja primaria la primera hoja o par de hojas que se encuentran después de los cotiledones (véase **cotiledón**)

infección primaria véase (**infección**)

infección secundaria véase (**infección**)

infección entrada y propagación de organismos patógenos en los materiales vivos (por ejemplo: las estructuras de las plántulas), no necesariamente, pero a menudo, causan síntomas de afección y pudrición
infección primaria organismo de afección presente y activo en la propia semilla
infección secundaria organismo de afección que se propaga de otras semillas o plántulas

mesocótilo en algunas monocotiledóneas altamente especializadas (por ejemplo: ciertas *Poaceae*) la parte del eje de la plántula entre el punto de unión del escutelo y el coleóptilo

monocotiledóneas grupo de plantas así clasificadas porque el embrión por lo general tiene un cotiledón (véase **dicotiledóneas**)

pelos radiculares una fina excrecencia tubular de células superficiales de la raíz

plántula una planta joven que se desarrolla del embrión en una semilla

radícula la raíz rudimentaria del embrión, que se convierte en la raíz primaria después de la emergencia a través del tegumento de la semilla durante la germinación (véase **raíz primaria**)

raíces seminales raíz primaria y un número de raíces secundarias que surgen a partir del eje del embrión y que forman el sistema de raíces de la plántula en los cereales

raíz achaparradas tipo de raíz característica de plántulas con síntomas fitotóxicos; por lo general corta y en forma de bastón, aunque a menudo con una punta de la raíz intacta (véase **raíz atrofiada**)

raíz atrofiada raíz con la punta de la raíz que falta o defectuosa, independientemente de la longitud de la raíz (véase **raíces achaparradas**)

raíz primaria raíz principal de la plántula, que se desarrolla de la radícula del embrión (véase **radícula**)

raíz retrasada una raíz por lo general con una punta intacta pero demasiado corta y débil para estar en equilibrio con las otras estructuras de la plántula

raíz secundaria utilizado en los análisis de las semillas en el sentido de alguna raíz que no sea la raíz primaria

tejido gametofítico tejido nutritivo que ocurre dentro de las semillas de coníferas (que ejerce una función similar al endospermo)

yema terminal ápice del brote envuelto por varias hojas más o menos diferenciadas

5.3 Principios generales

Los análisis de germinación se deben hacer con semillas puras, excepto donde está permitida el análisis de las semillas por réplicas pesadas.

Se debe aplicar la definición de semilla pura de la especie. La semilla pura puede ser tomada sea de la fracción de semilla pura de un análisis de pureza llevado a cabo según lo prescrito en el capítulo 3 o de una fracción representativa de la muestra remitida. Debe ser utilizada la definición de pellet puro cuando el lote de semillas ha sido recubierto, excepto en el caso de cintas o matas donde las semillas se analizan sin quitar la semilla.

Procedimientos establecidos para promover la germinación se dan en 5.6.3. Se permiten pruebas paralelas. Las reglas para la presentación de reportes paralelos y doble análisis se definen en 5.9. Si se llevan a cabo análisis adicionales después de cualquier procedimiento distinto que los indicados en 5.6.3, la prueba no está cubierta por las Reglas y el resultado y el procedimiento debe ser reportado bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* en el Certificado ISTA (véase 1.5.2.22).

Las semillas, organizadas en réplicas, se prueban en condiciones favorables de humedad y de acuerdo con los métodos previstos en la Tabla 5A. Después del período indicado en la Tabla 5A, son examinadas las réplicas y hechos los recuentos de las plántulas y de las semillas en las distintas categorías requeridas para la presentación de informes (5.9).

5.4 Sustratos de cultivo

5.4.1 Definición

Los medios de cultivo utilizados para los análisis de germinación son productos que proporcionan suficiente espacio de poros para aire y agua, para el crecimiento del sistema radicular y para el contacto con soluciones (agua) necesarias para el crecimiento de la planta.

Con el papel como medio de base (véase 5.6.2.1.1), se permite cualquier combinación de sustratos de cultivo prescrita en la Tabla 5A para esa especie, siempre que cada medio de cultivo está verificado y cumpla con las especificaciones establecidas en 5.4.2.

5.4.2 Especificaciones

Las siguientes especificaciones generales se aplican a todos los medios de cultivo y deben ser verificados:

Composición: el medio de cultivo puede ser papel, arena pura o mezclas de compuestos orgánicos con partículas minerales añadidas.

Características de retención del agua: cuando se agrega la cantidad apropiada de agua, las partículas del medio de cultivo deben tener la capacidad de retener el agua suficiente para proporcionar el movimiento continuo de agua a las semillas y plantas, sino también proporcionar suficiente espacio poroso para la aireación necesaria para la mejor germinación y el crecimiento de las raíces. El contenido de agua del medio de cultivo se debe ajustar para que corresponda a las necesidades de la especie que se está analizando, en base a la máxima capacidad de retención de agua del medio. La retención de agua se expresa entonces como un porcentaje de la máxima retención.

pH: el medio de cultivo debe tener un valor de pH dentro de la gama de 6,0-7,5 cuando se controla en el sustrato. Las mediciones de pH pueden ser reemplazadas por pruebas biológicas (véase 5.4.5).

Conductividad: la salinidad debe ser tan baja como sea posible y no más de 40 millisiemens por metro. Las mediciones de conductividad pueden ser reemplazadas por pruebas biológicas (véase 5.4.5).

Limpieza y ausencia de toxicidad: el medio de cultivo debe estar libre de semillas, hongos, bacterias o sustancias tóxicas, que pueden interferir con la germinación de semillas o el crecimiento o la evaluación de las plántulas.

Re-uso de sustratos: se recomienda fuertemente que el medio de cultivo sólo se utilice una vez.

Mediciones alternativas: puede ser difícil de comprobar todas las especificaciones o obtener sustratos de cultivo de los proveedores con las especificaciones solicitadas. Está permitido sustituir la medida de la conductividad con pruebas biológicas como fitotoxicidad. De lo contrario, deben ser verificadas todas las características descritas en 5.4.2.

5.4.3 Características del sustrato

5.4.3.1 Papel como sustrato

El papel debe ser de madera, algodón u otra celulosa vegetal purificada. El papel puede tener la forma de filtros de papeles, papel secante o toallas. El papel debe ser tal que:

– las raíces de las plántulas crezcan sobre y no en él;
– posea una resistencia suficiente para que pueda resistir el desgarro cuando se manipula durante el análisis.

5.4.3.2 Arena como sustrato

Al menos el 90 % de las partículas deben pasar a través de un tamiz con orificios o mallas de 2,0 mm de ancho. Si las características del tamaño de la partícula propuesta por el proveedor están de acuerdo con estas especificaciones a continuación, el laboratorio no tiene que llevar a cabo un control de calidad del tamaño de las partículas de arena. En ausencia de la hoja de especificaciones del proveedor, el laboratorio debe comprobar el tamaño de las partículas para cada lote de arena recibido.

5.4.3.3 Sustratos orgánicos

Se definen medios de cultivo orgánicos los que contienen los siguientes elementos en proporciones conocidas y satisfacen los requisitos de 5.4.2:

compuestos orgánicos: fibras tales como turba, fibras de coco o fibras de madera, con un tamaño recomendado de menos de 5 mm;

partículas minerales: por ejemplo arena, perlita, dolomita o vermiculita. La proporción debe ser de entre 15 y 30 % en volumen. Se recomienda que el 90 % de las partículas deban pasar a través de un tamiz con orificios o mallas de 3 mm de ancho.

Se puede utilizar cualquier otra mezcla de compuestos orgánicos y partículas minerales, que satisfacen las especificaciones incluidas en 5.4.2. La composición del sustrato debe ser descrito con claridad.

5.4.4 Agua

Se utiliza comúnmente y permite agua desmineralizada, agua desionizada, agua de grifo y agua de manantial.

5.4.4.1 Especificaciones generales

Limpieza: el agua usada para humedecer el sustrato debe estar razonablemente libre de impurezas orgánicas o inorgánicas.

pH: el pH debe estar dentro del rango de 6,0 a 7,5 en caso de control del sustrato, a menos que haya evidencia de que el pH fuera de este rango no tiene una influencia negativa en los resultados de los análisis de germinación.

5.4.5 Control de calidad

Nuevas entregas de sustrato deben cumplir con los requisitos de las principales características físicas y estar libres de efectos negativos debido a las sustancias tóxicas o microorganismos nocivos.

Deben ser controladas las características de composición, retención de agua, pH, limpieza y inocuidad (ausencia de efectos fitotóxicos y negativos debidos a microorganismos).

Mediciones alternativas: puede ser difícil de comprobar todas las especificaciones u obtener sustratos de los proveedores con las especificaciones solicitadas. Es permisible reemplazar las mediciones de pH y la conductividad con análisis biológicas, tales como una prueba para la fitotoxicidad.

Ejemplos de pruebas de control de calidad de los medios se dan en el *ISTA Handbook on Seedling Evaluation*. Pruebas de control de calidad pueden ser realizadas por el laboratorio de análisis de semillas o subcontratados a laboratorios especializados en análisis de suelo o pruebas de microbiología.

5.5 Material y aparatos

5.5.1 Contenedores

Se pueden utilizar todos los tipos de envases de plástico, vidrio, metal o cerámica, siempre que no tengan efectos tóxicos y estén limpios y libres de microorganismos.

5.5.2 Equipos de conteo

Colocar semillas utilizando tablas de contar o contadores de vacío es admisible, siempre y cuando el uso de estas herramientas no influya en el resultado de la germinación o cause resultados replicados siendo sesgados.

Ejemplos de cómo utilizar el equipo de conteo se dan en el *ISTA Handbook on Seedling Evaluation*.

5.5.2.1 Tableros de conteo

Tableros de conteo se utilizan a menudo para semillas grandes como *Zea, Phaseolus* y *Pisum*.

5.5.2.2 Contadores de vacío

Contadores de vacío pueden en principio ser utilizados para todas las especies, pero se utilizan sobre todo para las especies con semillas regularmente formadas y relativamente suaves, como los cereales o especies de *Brassica* o *Trifolium*.

5.5.3 Aparato de germinación

5.5.3.1 Campana de cristal o aparato Jacobsen

Este aparato por lo general consiste en una placa de germinación sobre la que se colocan sustratos de papel de filtro con las semillas. El sustrato se mantiene continuamente húmedo por medio de una mecha, que se extiende hacia abajo a través de ranuras o agujeros en la placa de la germinación en el baño de agua subyacente.

Para evitar el secado, el sustrato se cubre con una campana de vidrio provista de un orificio que permite la ventilación sin evaporación indebida. La temperatura está condicionada ya sea indirectamente por calentamiento/enfriamiento del agua en el baño de agua, o directamente por el condicionamiento de la placa de germinación, y por lo general se regula automáticamente. El aparato puede ser

utilizado para todas las temperaturas prescritas, constantes o variables.

5.5.3.2 La incubadora de germinación y el cuarto de germinación

La incubadora se utiliza para la germinación de las semillas en la oscuridad o luz o para el suministro de semillas con tratamientos previos para romper la dormancia, como el enfriamiento previo. El cuarto de germinación es una modificación de la incubadora, pero es lo suficientemente grande para permitir a los trabajadores a entrar y colocar los análisis dentro de ella. Incubadoras de germinación y cuartos de germinación están bien aislados y están equipados con sistemas de calefacción y refrigeración para asegurar el mantenimiento de las temperaturas requeridas. La temperatura debe ser distribuida de manera uniforme para asegurar que todas las muestras colocadas en la incubadora/cuarto tengan una temperatura dentro de los límites de temperatura prescritos para la prueba (±2 °C) o pretratamiento. Si la incubadora/cuarto no tiene un sistema capaz de proporcionar temperaturas alternas, las muestras pueden ser transferidas de una incubadora/cuarto a otra funcionando a una temperatura diferente para lograr el ciclo de temperatura alternativa deseada. A los análisis se debe suministrar agua suficiente para la germinación y no se debe permitir que se seque. Esto se puede lograr mediante el mantenimiento de un alto grado de humedad mediante el uso de incubadoras (mojadas) o el uso de humidificadores en las salas de germinación. Los análisis también pueden estar encerrados en contenedores a prueba de humedad.

5.6 Procedimiento

5.6.1 Muestra de trabajo

Se toman al azar cuatrocientas semillas de la semilla pura mezclada bien (5,3) y espaciadas uniformemente y adecuadamente separadas sobre el sustrato húmedo. Se debe tener cuidado para asegurarse de que no haya ninguna selección de las semillas causando así resultados sesgados. Se utilizan normalmente repeticiones de 100 semillas, espaciadas lo suficientemente lejos de la cama de siembra para minimizar el efecto de las semillas adyacentes en el desarrollo de las plántulas. Pueden ser necesarias réplicas de división de 50 o incluso 25 semillas para garantizar el espacio adecuado, en particular cuando hay presentes patógenos o saprofitos transmitidos por semillas. Cuando las semillas cultivadas en sustratos de papel están fuertemente infectadas, puede ser necesario un recuento intermedio para transferir las semillas y plantas restantes a un medio fresco.

Unidades de semillas multigermen, a excepción de *Arachis*, no se rompen durante la prueba de germinación y se ponen a prueba como si fueran semillas individuales.

Para *Arachis*, aunque una vaina sea una unidad de semilla pura, la semilla debe ser separada de la vaina antes de su uso en un análisis de germinación.

La prueba de germinación ISTA se basa en 400 semillas. En ciertas circunstancias (véase 2.5.4.5) puede ser necesario poner a prueba menos de 400 semillas. En tales casos, al menos 100 semillas deben ser probadas en réplicas de 25 o 50.

A petición del solicitante, una prueba de germinación puede llevarse a cabo en 200 semillas, sólo para la emisión de un Certificado Internacional Azul de Muestreo de semillas. En este caso, el número de semillas analizadas es de menos de 400 y debe ser reportado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* (ver 5.9).

Cuando durante una prueba de germinación, debido a errores de conteo, más de 5 semillas se pierden o se encontran (es decir ±1,25 % para un total de 400 semillas), la prueba debe repetirse.

Si hay hasta 5 semillas perdidas o encontradas como extra en el análisis, en ese caso, cada réplica se debe ajustar a 100 por cálculo. Por ejemplo, si una réplica tenía 80 plántulas normales, 10 plántulas anormales y 9 semillas muertas, con una semilla perdida, entonces el resultado se debe ajustar a 100 con el siguiente cálculo proporcional: 80 × 100: 99 plántulas normales, 10 × 100: 99 plántulas anormales y 9 × 100: 99 semillas muertas. El redondeo sigue los principios descritos en 5.8.2.

Nota: si la muestra remitida es menor que lo indicado, el muestreador debe ser notificado por lo tanto y el análisis retenido hasta que se reciba suficiente semilla en una sola muestra remitida, salvo que en el caso de las semillas muy caras, el análisis puede ser completado dentro de lo posible y la siguiente declaración insertada en el certificado:
*"*La muestra remitida pesaba sólo ... g y no está en conformidad con las Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas."
O, en el caso de las semillas en pellets:
"La muestra remitida contenía sólo … semilla peletizada y no está en conformidad con las Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas."

5.6.2 Condiciones de análisis

Sustratos permitidos, temperaturas, la duración de los análisis y las instrucciones adicionales, incluidos los procedimientos recomendados para romper la dormancia, se indican en la Tabla 5A. Sustratos, temperaturas y duración del análisis indicada son prescriptivos y no hay otros que puedan ser utilizados.

5.6.2.1 Sustratos de cultivo

5.6.2.1.1 Métodos que utilizan papel

Superficie de papel (TP; *Top of paper*): las semillas germinan en la parte superior de una o más capas de papel que se colocan:
- en el aparato de Jacobsen (5.5.3.1);
- en cajas transparentes o placas de Petri. La cantidad apropiada de agua se añade al comienzo del análisis y la evaporación se puede minimizar mediante una tapa hermética o encerrando los platos en bolsas de plástico;
- directamente en bandejas en incubadoras de germinación. La humedad relativa en las incubadoras debe entonces ser mantenida a un nivel que impida que las pruebas se sequen. Se puede utilizar papel poroso humedecido o algodón absorbente como base para los sustratos.

Entre papeles (BP; *Between paper*): las semillas germinan entre dos capas de papel. Esto se puede conseguir:
- cubriendo ligeramente las semillas con una capa adicional de papel de filtro;
- mediante la colocación de las semillas en sobres doblados que pueden ser colocados en una posición horizontal o vertical;
- mediante la colocación de las semillas en toallas de papel enrolladas (los rollos deben ser colocados en posición vertical).

Los sustratos se mantienen en cajas cerradas, envueltos en bolsas de plástico o colocados directamente en bandejas en un gabinete de germinación, siempre que la humedad relativa en el germinador pueda mantenerse muy cerca de la saturación.

Papel plisado (PP; *Pleated paper*): las semillas se colocan en un plisado, tira de papel-acordeón con 50 pliegues, por lo general dos en cada pliegue. Las tiras plisadas se guardan en cajas o directamente en un armario (húmedo), con una tira plana a menudo envuelta alrededor del papel plegado para garantizar las condiciones de humedad uniformes. Este método puede ser utilizado como un alternativa cuando se prescriban TP o BP.

5.6.2.1.2 Métodos que utilizan arena o medios de cultivo orgánico

La **arena** y los **sustratos de cultivo orgánico** se utilizan de la siguiente manera:

Superficie de arena (TS; *Top of sand*), superficie de medio de cultivo orgánico (TO; Top of organic growing medium): las semillas se presionan en la superficie de la arena o del medio de cultivo orgánico.

Arena (S; *Sand*), medio de cultivo orgánico (O; *Organic growing medium*): las semillas se siembran en una capa de nivel de arena húmeda o del medio de cultivo orgánico y se cubren con 10–20 mm de sustrato sin comprimir, dependiendo del tamaño de la semilla. Para garantizar una buena aireación se recomienda que la capa inferior sea aflojada para poder rastrillar antes de la siembra.

La arena o sustratos de cultivo orgánicos se pueden usar en lugar del papel, incluso si no se prescribe en la Tabla 5A:
- Cuando la evaluación de una muestra infectada resulta impracticable debido a la propagación de la infección entre las semillas y plántulas en sustrato de papel;
- Con fines de investigación y para confirmar la evaluación de plántulas en caso de duda;
- Cuando las plántulas muestran síntomas fitotóxicos.

5.6.2.1.3 Métodos que utilizan una combinación de papel y arena

Superficie de papel cubierto con arena (TPS; *Top of paper covered with sand*): las semillas germinan en la parte superior de una hoja de papel crespón de celulosa humedecido que se cubre con una capa de 2 cm de arena seca. El papel crespón de celulosa es un bloc de papel de varias capas, por ejemplo Versa-Pak®.

5.6.2.1.4 Suelo

El suelo, en general, no se recomienda como medio principal de crecimiento. Sin embargo, puede ser utilizado como una alternativa a los medios de cultivo orgánicos cuando las plántulas muestran síntomas fitotóxicos o si la evaluación de las plántulas está en duda en papel o arena. Si se utiliza, el suelo debe cumplir las especificaciones que figuran en 5.4.2.

5.6.2.2 Humedad y aireación

Se deben tomar precauciones para asegurar que el medio no pueda secarse y contenga agua suficiente para todo el período de análisis. Riego posterior debe evitarse siempre que sea posible, ya que es probable que aumente la variabilidad entre réplicas y entre las pruebas. Sin embargo, puede ser necesario añadir agua a los recuentos intermedios.

Medidas especiales para la aireación no son necesarias para los análisis de TP y PP encerrados en cajas o placas de Petri. Para BP, sin embargo, se debe tener cuidado de que los sobres y toallas de papel enrolladas sean lo suficientemente flojos para permitir suficiente aire alrededor de las semillas. Por la misma razón, la arena y los sustratos de cultivo orgánicos no deben ser comprimidos.

5.6.2.3 Temperatura

Las temperaturas prescritas en la Tabla 5A para la germinación de una especie son aquellas a las que está expuesta la semilla sobre o dentro del sustrato. Deben ser lo más uniforme posible en todo el aparato de la germinación, incubadora o cuarto de germinación. Para cualquier análisis, sea en la oscuridad o bajo luz artificial o la luz del día indirecta, la variación de la temperatura prescrita no debe ser más de ±2 °C.

Cuando se indican temperaturas alternas, la temperatura más baja se debe mantener durante 16 h y la más alta 8 h. Un cambio gradual que dura no más de 3 h puede ser satisfactorio, pero un cambio brusco que dura una hora o menos, puede ser necesario para romper la dormancia.

Cuando se da un intervalo de temperatura, no se pueden aplicar tolerancias a las temperaturas superiores o inferiores. Por ejemplo, cuando se prescribe una temperatura de enfriamiento previo de 5 a 10 °C, esto significa que el intervalo de temperatura permitido es de 5 a 10 °C, y no 5 ±2 °C a 10 ±2 °C.

5.6.2.4 Luz

Las semillas de la mayoría de las especies de la Tabla 5A germinarán ya sea en la luz o en la oscuridad. Sin embargo generalmente se recomienda la iluminación del sustrato con una fuente artificial o la luz del día indirecta, para obtener plántulas mejor desarrolladas, que se evalúan más fácilmente. Las plántulas cultivadas en completa oscuridad son descoloridas y blancas y, por tanto, más sensibles al ataque por microorganismos. Además, ciertos defectos, tales como la deficiencia de clorofila, pueden no ser detectados.

En ciertos casos (por ejemplo algunas gramíneas tropicales y subtropicales), la luz puede promover la germinación de las muestras que llevan dormancia (5.6.3.1). En tales casos, la luz debe ser entre 750 y 1.250 lux de lámparas blancas frías. También hay unas pocas especies (por ejemplo *Phacelia tanacetifolia*) que deben germinar en la oscuridad, como la luz puede ser inhibitoria. Se dan recomendaciones específicas para la luz o la oscuridad en la última columna de la Tabla 5A.

5.6.2.5 Elección del método

Cuando los métodos alternativos están indicados en en la Tabla 5A, uno de ellos (cualquier combinación de sustrato y temperatura) debe ser utilizado. La elección del método dependerá en gran medida de las instalaciones y la experiencia del laboratorio de análisis y, en cierta medida, de la procedencia y condición de la muestra.

5.6.3 Procedimientos para promover la germinación de semillas en estado latente

Por diversas razones (por ejemplo latencia fisiológica, dureza de las semillas, sustancias inhibitorias) un número considerable de semillas duras o frescas puede permanecer al final del análisis de germinación. Más germinación completa puede ser obtenida volviendo a probar una o una combinación de los procedimientos que figuran en 5.6.3.1, 5.6.3.2 y 5.6.3.3. Estos procedimientos pueden aplicarse al análisis original, si se sospecha dormancia. Los procedimientos recomendados se indican en la columna 6 de la Tabla 5A, pero esto no impide el uso de otros procedimientos que figuran en 5.6.3.1, 5.6.3.2 y 5.6.3.3. El período de tratamiento no está incluido en el período de análisis de germinación. Los detalles precisos y la duración del procedimiento de ruptura de la dormancia deben ser reportados en el certificado ISTA.

Para algunas semillas de árboles y arbustos, donde se sabe por experiencia que una parte de las semillas no germinan, debido a la dormancia, se prescribe un segundo análisis que incorpora un procedimiento especial de ruptura de la dormancia que preferiblemente debe ejecutarse simultáneamente con la prueba normal (prueba doble).

Se permite y se describe en 5.6.3.4 la desinfección de la semilla antes del análisis.

5.6.3.1 Procedimientos para romper la dormancia fisiológica

Preenfriado: Las réplicas para la germinación se ponen en contacto con el sustrato húmedo y se mantienen a una temperatura baja durante un período inicial antes de ser trasladadas a la temperatura indicada en la columna 3 de la Tabla 5A. Agrícolas, hortalizas, flores, especias, semillas de hierbas y medicinales se mantienen por lo general a una temperatura de 5 a 10 °C durante un período inicial de hasta 7 días. En algunos casos, puede ser necesario prolongar el período de preenfriado o para reenfriado.

Semillas de árboles y arbustos son generalmente previamente enfriadas a una temperatura de 1 a 5 °C durante un período, que van con la especie, a partir de 2 semanas a 12 meses anteriores al análisis de germinación, pero se debe tener cuidado para evitar la congelación. Para las semillas que requieren un largo período de preenfriamiento y cuando un análisis de germinación no se puede completar en el plazo de dos meses, se recomiendan las pruebas de viabilidad rápidas (por ejemplo ensayo con tetrazolio: véase el Capítulo 6; prueba de los embriones escindidos: véase el Capítulo 12). Para algunas especies de árboles y arbustos con un grado variable de dormancia, se prescriben pruebas duplicadas con y sin estratificación en frío (doble ensayo), como se

indica en la Tabla 5A Parte 2, que si posible se debería poner a germinar al mismo tiempo.

Precalentado: Las semillas no embebidas de las réplicas para la germinación, se calientan a una temperatura de 30 a 35 °C con circulación del aire por un período de hasta 7 días antes de ser colocadas en las condiciones de germinación prescritas. En algunos casos, puede ser necesario prolongar el período de precalentamiento.

Para ciertas especies tropicales y subtropicales, se pueden utilizar temperaturas de precalentamiento de 40 a 50 °C (por ejemplo *Arachis hypogaea*: 40 °C; *Oryza sativa*: 50 °C).

Prealmacenado: Para algunas especies templadas de gramíneas, la semilla sometida a análisis se almacena a una temperatura de 15 a 25 °C con circulación de aire libre antes de que se ponga a prueba. Se puede utilizar un período de almacenamiento previo de hasta un año.

Luz: Los análisis deben estar iluminados durante al menos 8 horas en cada ciclo de 24 h y durante el período de alta temperatura cuando las semillas germinan a temperaturas alternantes. La calidad y la intensidad de la luz pueden ser importantes. La intensidad de la luz debe estar entre 750 y 1250 lux de lámparas blancas frías. Se recomienda la iluminación especialmente para ciertas gramíneas tropicales y subtropicales (por ejemplo *Chloris gayana, Cynodon dactylon*).

Sobres de polietileno sellados: Cuando se encuentra al final del análisis estándar una alta proporción de semillas frescas no germinadas (por ejemplo en *Trifolium* spp.), volver a probar en un sobre de polietileno sellado, de tamaño suficiente para contener la prueba satisfactoriamente, lo que en general induce éstas semillas a la germinación.

Ácido giberélico (GA_3): Se recomienda el tratamiento con GA_3 principalmente para *Avena sativa, Hordeum vulgare, Secale cereale, × Triticosecale, Triticum aestivum* y *Valerianella locusta*. El sustrato de germinación se humedece con una solución de 0,05 % de GA_3, preparada disolviendo 500 mg GA_3 en 1 litro de agua. Cuando la dormancia es más débil, 0,02 % puede ser suficiente; cuando es más fuerte, hasta 0,1 % puede ser utilizado de forma rutinaria. Si es necesario utilizar concentraciones superiores al 0,1 %, se debe tener cuidado para asegurar que el desarrollo de las plántulas no se vea afectado de manera adversa. Cuando se requiere una concentración mayor que 0,08 %, se recomienda la disolución de la GA_3 en una solución tampón de fosfato. La solución tampón se prepara disolviendo 1,7799 g de Na_2HPO_4 $2H_2O$ y 1,3799 g de NaH_2PO_4 H_2O en 1 L de agua destilada.

Nitrato de potasio (KNO_3): En lugar de agua, se utiliza una solución de KNO_3 0,2 %, preparada por disolución de 2 g KNO_3 en 1 L de agua, para saturar el sustrato de germinación, al comienzo de la prueba. El agua se utiliza para humedecer a partir de entonces.

Escarificación ácida: Las semillas se empapan en ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) hasta que el tegumento de la semilla está picado. La digestión puede ser rápida, o tomar más de una hora, pero las semillas deben ser examinadas cada pocos minutos. Después de la digestión, las semillas se deben lavar a fondo con agua corriente antes de que el análisis de germinación inicie (por ejemplo *Brachiaria* spp.). En el caso de *Oryza sativa*, la escarificación puede realizarse por inmersión de la semilla en 1 M de ácido nítrico (HNO_3) durante 24 h (después de precalentado a 50 ±2 °C).

Escarificación mecánica: La semilla se corta, perfora, raspa o lija para mejorar la permeabilidad a la humedad y los gases. Se debe tener cuidado para escarificar el tegumento de la semilla en un lugar adecuado con el fin de evitar de dañar el embrión y la plántula resultante. Los mejores lugares son o bien inmediatamente por encima de las puntas de los cotiledones o a los lados de los cotiledones.

5.6.3.2 Procedimientos para la eliminación de dureza seminal

Para muchas especies, donde hay semillas duras, no se hace ningún intento para germinarlas y se reporta el porcentaje encontrado. Cuando se requiera una evaluación más completa sobre solicitud del cliente, algún procedimiento especial para la eliminación de la dureza seminal es esencial. Este procedimiento se puede aplicar antes del comienzo del análisis de germinación o, si se sospecha que el procedimiento pueda afectar negativamente a las semillas no duras, debe llevarse a cabo, sobre las semillas duras restantes, después del periodo de análisis prescrito.

Inmersión: Las semillas con tegumentos de las semillas duras pueden germinar más fácilmente después de la inmersión durante un máximo de 24 a 48 h en el agua, o, por *Acacia* spp., tras poner las semillas en aproximadamente tres veces su volumen de agua cerca hirviendo hasta que se enfríe. La prueba de germinación se inicia inmediatamente después de la inmersión.

Escarificación mecánica: perforación cuidadosa, picar, raspar o lijar el tegumento de la semilla puede ser suficiente (véase 5.6.3.1).

Escarificación ácida: Este procedimiento es eficaz con algunas especies (por ejemplo *Desmodium* spp., *Macroptilium* spp., *Stylosanthes guianensis*) (véase 5.6.3.1).

5.6.3.3 Procedimientos para la eliminación de sustancias inhibidoras

Prelavado: Sustancias naturalmente presentes en el pericarpio o tegumentos que actúan como inhibidores de la germinación, se pueden eliminar lavando las semillas en agua corriente a una temperatura de 25 ±2 °C antes de hacer el análisis de germinación. Después del lavado, las semillas deben secarse a una temperatura de 20 a 25 °C (por ejemplo *Beta vulgaris*). Semillas en pellets no deben ser prelavadas.

Eliminación de estructuras exteriores: La germinación de algunas especies se promueve mediante la eliminación de las estructuras exteriores, como por ejemplo involucro de cerdas o lema y palea de ciertas *Poaceae*.

5.6.3.4 Desinfección de la semilla

Para las muestras de *Arachis hypogaea* y *Beta vulgaris* solamente, se puede aplicar un tratamiento fungicida por el laboratorio antes de poner la semilla en germinación, cuando se sabe que el lote de semillas no ha recibido un tratamiento de este tipo. Los resultados se reportan en (Germinación) en los espacios correspondientes.

La aplicación de tratamientos fungicidas de laboratorio, no está cubierta por las Reglas ISTA para las muestras de otras especies (véase 1.5.2.22). Resultados de los análisis de germinación de otras especies tratadas con aplicación de un fungicida de laboratorio deben ser reportados bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* y seguido de: "Este método no está cubierto por las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas". Además, debe también llevarse a cabo un análisis sin aplicar un tratamiento fungicida de laboratorio y los resultados reportados en (Germinación) en los espacios correspondientes.

Cuando se utiliza un pretratamiento fungicida, debe ser reportado en el Certificado ISTA en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* el nombre de la sustancia química, el porcentaje de ingredientes activos y el método de tratamiento.

5.6.4 Duración del análisis

La duración del análisis para especies individuales se indica en la Tabla 5A. La duración del tratamiento requerido para romper la dormancia (5.6.3) antes o durante el análisis no se toma como parte del período de análisis de germinación.

Cuando, por ejemplo, algunas semillas acaban de comenzar a germinar y, si es conveniente, el período de análisis establecido podrá ser prorrogado por:

a) 7 días;
b) hasta la mitad del plazo establecido;
c) hasta 21 días para *Lolium* spp.;
d) hasta 32 días para *Festuca* spp. (excepto *F. arundinacea* y *F. pratensis*);
e) hasta 42 días para *Poa* spp. (excepto *P. bulbosa*);
f) hasta 54 días para *Poa bulbosa.*

Si, por otro lado, se ha obtenido antes del final del período de análisis prescrito la máxima germinación de la muestra, la prueba puede ser terminada. A petición del solicitante, el análisis de germinación puede ser terminado cuando la muestra alcanza un porcentaje de germinación predeterminado.

El tiempo del primer conteo es aproximado pero debe ser suficiente para permitir que las plántulas lleguen a una etapa de desarrollo que permita una evaluación precisa. Los tiempos indicados en la Tabla 5A se refieren a las temperaturas más altas. Si se elige una temperatura más baja, el primer conteo puede ser que se deba diferir. Para los análisis en la arena, siendo que los sustratos de cultivo orgánicos o suelo no duran más de 7-10 días, el primer conteo se puede omitir. Se recomiendan recuentos intermedios para eliminar las plántulas que están suficientemente desarrolladas, para hacer el conteo más fácil y para evitar que afecte al desarrollo de otras plantas. Número y fecha de los recuentos intermedios pueden dejarse a la discreción del analista, pero deben mantenerse en un mínimo para reducir el riesgo de dañar las plantas que no están suficientemente desarrolladas. Cuando las muestras se analicen en papel, las semillas no germinadas y las plántulas que requieran más tiempo para llegar a la etapa de desarrollo que permita una evaluación precisa, se pueden transferir a un sustrato fresco con recuentos intermedios. Al hacer esto, se debe tener cuidado para garantizar la integridad de las réplicas y para evitar cualquier daño a las semillas y plántulas transferidas.

5.6.5 Evaluación

Cada plántula debe ser evaluada de acuerdo con los principios generales establecidos en 5.2.5–5.2.8. Para la evaluación, las estructuras esenciales deben desarrollarse lo suficiente como para permitir la detección de cualquier anormalidad.

Al final de la prueba de germinación, se debe determinar la clasificación de las semillas no germinadas como se prescribe en 5.6.5.3.

5.6.5.1 Plántulas

Las plántulas que han alcanzado una etapa en que todas las estructuras esenciales se puedan evaluar con precisión deben ser removidas del análisis en el primer y cualesquiera otros conteos intermedios. Se deben eliminar las plántulas deterioradas con el fin de reducir el riesgo de infección secundaria, pero plántulas dudosas con otros defectos se deben dejar en el sustrato hasta el recuento final, a menos que sea obvio que nunca se convertirán en plántulas normales, por ejemplo, plántulas rotas y plántulas blancas.

5.6.5.2 Unidades de semillas múltiples

Cuando una unidad produce más de una plántula normal, sólo una se cuenta para la determinación del porcentaje de germinación. A petición, también se puede determinar el número de plántulas normales producidas por 100 unidades o el número de unidades que han producido una, dos o más de dos plántulas normales.

5.6.5.3 Semillas no germinadas

Semillas duras: Al final de un ensayo de germinación, las semillas duras serán contadas y reportadas como tales en el certificado ISTA.

Semillas frescas: Cuando un 5 % o más de las semillas frescas se cree esté presente, su potencial para germinar debe ser determinado mediante disección, tetrazolio o embrión escindido. Aquellas determinadas para tener el potencial para germinar son reportadas como frescas. Aquellas que se ha decidido no tener el potencial para germinar son reportadas como muertas. Trás esta determinación, si existe alguna duda en cuanto a si la semilla esté fresca o muerta, la semilla debe ser clasificada como muerta. Si no ya aplicado, se deben tomar medidas, para romper la dormancia, descritas en 5.6.3, si se encuentra un 5 % o más de semillas no germinadas frescas.

Semillas muertas: Obviamente semillas muertas (blandas, mohosas) son contadas y reportadas como tales en el certificado ISTA. Si se puede observar que una semilla ha producido cualquier parte de una plántula (por ejemplo la punta de la raíz primaria) aunque deteriorada en el momento de la evaluación, se cuenta como plántula anormal y no como semilla muerta.

Otras categorías: A petición del cliente, puede ser determinado el número de semillas vacías, sin embrión o dañadas por insectos y se reporta bajo "Otras determinaciones" *(Other determinations)* en el Certificado ISTA.

Para detectar estas otras categorías de semillas, pueden ser usados los siguientes métodos:

a) Antes del ensayo de germinación:
- Análisis con rayos X, que se lleva a cabo en las réplicas utilizadas para la prueba de germinación.
- Análisis del corte, que se realiza en cuatro réplicas separadas de 100 semillas, remojadas durante hasta 24 h a temperatura ambiente. Cada semilla se corta a lo largo de su eje longitudinal y el contenido examinado y clasificado como lleno, vacío, sin embrión o dañado por insectos.

b) Después del ensayo de germinación:
- Análisis del corte o análisis con rayos X de las semillas que parecen no germinadas frescas.

Cuando se realiza una prueba de tetrazolio, también se puede determinar el porcentaje de semillas vacías y dañadas por insectos durante la preparación y evaluación.

5.7 Reanálisis

El resultado de un análisis debe ser considerado insatisfactorio y no debe ser reportado y una segunda prueba debe ser hecha con el mismo o con un método alternativo, en las siguientes circunstancias:

a) Cuando se sospecha dormancia (semillas no germinadas frescas), se puede aplicar en una o más pruebas adicionales cualquier procedimiento para romper la dormancia indicado en la columna 6 de la Tabla 5A o en 5.6.3.1. Se debe reportar el mejor resultado obtenido y debe ser indicado el procedimiento en el certificado ISTA.
b) Cuando el resultado puede no ser fiable debido a la fitotoxicidad o a la propagación de hongos o bacterias, deben realizarse repeticiones de análisis utilizando uno o varios métodos alternativos que se indican en la Tabla 5A o en la arena, los sustratos de cultivo orgánicos o el suelo. Si es necesario, debe ser aumentada la distancia entre las semillas. Debe ser reportado el mejor resultado obtenido y debe ser indicado el método utilizado en el certificado ISTA.
c) Cuando hay dificultad en decidir la correcta evaluación de una serie de plántulas, deben realizarse repeticiones de ensayos utilizando uno o varios métodos alternativos según lo prescrito en la Tabla 5A o en la arena, los sustratos de cultivo orgánico o el suelo. Debe ser reportado el mejor resultado obtenido y debe ser indicado el método utilizado en el certificado ISTA.
d) Cuando haya pruebas de errores en las condiciones de ensayo, en la evaluación de las plántulas o en el conteo, debe hacerse una nueva prueba utilizando el mismo método o un método alternativo como se describe en la Tabla 5A y debe ser reportado el resultado de la segunda prueba en el Certificado ISTA.
e) Si una muestra no responde satisfactoriamente al método seleccionado, será necesario volver a probar uno o más de los métodos alternativos. Cuando se producen plántulas que no se pueden evaluar con facilidad o muestran síntomas fitotóxicos, se debe hacer una nueva prueba en la arena, los sustratos de cultivo orgánico o el suelo a la temperatura prescrita en la Tabla 5A. Plantar a lado otra muestra del mismo cultivar, que haya germinado satisfactoriamente, puede proporcionar una guía útil para la evaluación de esta nueva prueba. Debe ser reportado el mejor resultado obtenido y debe ser indicado el método utilizado en el certificado ISTA.

f) Cuando el intervalo para las réplicas excede el intervalo máximo tolerado en la Tabla 5B, debe llevarse a cabo un nuevo análisis utilizando el mismo método de ensayo o un método alternativo. Si utilizando el mismo método los resultados de la nueva prueba son compatibles con la primera (es decir, la diferencia no supera la tolerancia indicada, ya sea en la Tabla 5C, 5D o 5E), debe ser reportado el promedio de los resultados de las pruebas en el certificado ISTA (ver 5.8.1 Tolerancias). Si se utiliza un método alternativo y si los resultados son mejores y dentro de las tolerancias aceptadas, entonces estos resultados deben ser reportados en el certificado ISTA (véase 5.8.1 Tolerancias) y no deben ser promediados con los resultados de las pruebas anteriores.
Cuando el ensayo se lleva a cabo bajo las circunstancias a), b), c) o e), deben ser indicados los mejores resultados obtenidos en el Certificado ISTA. Los resultados de las otras pruebas no tienen que ser reportados en el certificado ISTA, salvo expresa petición del solicitante.

g) La prueba debe repetirse cuando, debido a errores de conteo durante una prueba de germinación, se pierden o se encuentran más de 5 semillas (es decir ±1,25 % para un total de 400 semillas).

5.8 Cálculo y expresión de los resultados

El resultado del análisis de germinación se expresa como porcentajes en número de plántulas normales y anormales y semillas duras, frescas y muertas. Los porcentajes se redondean al número entero más próximo. La suma de los porcentajes de plántulas normales y anormales y semillas duras, frescas y muertas debe ser 100 (ver 5.8.2 Resultados de redondeo).

Para las unidades de semillas múltiples, se cuenta sólo una de las plántulas normales por unidad para calcular el resultado de la prueba de germinación. Bajo petición, puede ser también reportado el número de unidades productientes una, dos o más de dos plántulas normales, expresando los resultados como un porcentaje del número total de unidades que han producido al menos una plántula normal o, alternativamente, el número total de plántulas producidas por un número dado de unidades de semillas.

5.8.1 Tolerancias

El resultado de un análisis de germinación se puede confiar sólo si la diferencia entre las réplicas más altas y más bajas se encuentra dentro de las tolerancias aceptadas. Para comprobar la fiabilidad de un resultado de un ensayo, el porcentaje medio de las réplicas se redondea al número entero más cercano y en comparación con la Tabla 5B. El resultado se considera fiable, si la diferencia entre las réplicas más altas y más bajas no exceda de la tolerancia indicada. Las tolerancias se aplican al menos a la categoría de plántulas normales.

Se debe hacer una nueva prueba, si el intervalo de la réplica excede el rango máximo tolerado en la Tabla 5B. Si el segundo resultado, utilizando el mismo método, se encuentra en la tolerancia con la primera (es decir, la diferencia entre los dos resultados de ensayo no excede de la tolerancia indicada en la Tabla 5C), debe ser reportado el promedio de los dos resultados de la prueba en el certificado ISTA.

Si el segundo resultado no está en la tolerancia con el primero (es decir, la diferencia entre los dos resultados del ensayo excede la tolerancia indicada en la Tabla 5C), se debe hacer una tercera prueba. Si los tres resultados de la prueba están en la tolerancia (es decir, la diferencia entre los tres resultados de la prueba no excede de la tolerancia indicada en la Tabla 5D), debe ser reportado la media de los tres resultados de la prueba, utilizando el mismo método. Si los tres resultados de las pruebas no están en la tolerancia (es decir, la diferencia entre los tres resultados de la prueba excede la tolerancia indicada en la Tabla 5D), se reporta el mayor resultado compatible obtenido a partir de la comparación de los dos pares de ensayo de las tres pruebas (es decir, la comparación de las pruebas 1 y 3, y las pruebas 2 y 3, las pruebas 1 y 2 que ya ha sido encontrada para estar fuera de tolerancia). Si después de llevar a cabo el segundo retest se obtiene ningún resultado compatible, se lleva a cabo una cuarta prueba.

Si los cuatro resultados de las pruebas están en la tolerancia (es decir, la diferencia entre los cuatro resultados de las pruebas no excede de la tolerancia indicada en la Tabla 5E), se debe reportar el promedio de los cuatro resultados de las pruebas, utilizando el mismo método. Si los cuatro resultados de las pruebas no están en la tolerancia (es decir, la diferencia entre los cuatro resultados de la prueba excede la tolerancia indicada en la Tabla 5E), se reporta el mayor resultado compatible obtenido a partir de la comparación de los tríos prueba de tres de las cuatro pruebas (es decir, la comparación de las pruebas 1, 2 y 4, las pruebas 1, 3 y 4, y las pruebas 2, 3 y 4). Si después de realizar la comparación de los tríos de pruebas se obtiene ningún resultado compatible, se reporta el mayor resultado compatible obtenido a partir de la comparación de los tres pares de las cuatro pruebas (es decir, la comparación de las pruebas 1 y 4; prueba de 2 y 4, y las pruebas de 3 y 4). Si después de llevar a cabo la comparación de estos tres pares de pruebas se obtiene ningún resultado compatible, se reporta que no hubo resultado del ensayo y el cliente queda informado de que la muestra parece tener una variación inaceptable en la germinación.

La figura 5.3 ilustra, en forma de un diagrama de flujo, el procedimiento de repetición de ensayo para obtener resultados compatibles dentro de la tolerancia.

Cuando se reporta el porcentaje de germinación en el Certificado ISTA, se debe indicar el método utilizado. La prueba de germinación ISTA se basa en 400 semillas. Se debe reportar el número probado en los casos cuando se ponen a prueba menos de 400 semillas.

5.8.2 Resultados del redondeo

En primer lugar, redondee el porcentaje de plántulas normales hacia arriba o hacia abajo al número entero más próximo (xx.0 y xx.25 se redondearán hacia abajo a xx; xx.50 y xx.75 se redondearán hacia arriba a xx + 1).

Sume las partes enteras de los porcentajes restantes.

Si la suma es 100, el procedimiento termina; de lo contrario, continúe con los siguientes pasos:

1. Encuentre el valor con la mayor parte decimal entre los porcentajes restantes (plántulas anormales, semillas duras, semillas frescas y semillas muertas) y redondee este porcentaje al número entero superior; mantenga este valor como resultado final.
2. Sume las partes enteras de los porcentajes restantes.
3. Si la suma es 100, el procedimiento termina; de lo contrario continuar con otros pasos 1. y 2.

En el caso de partes decimales iguales, el orden de prioridad es plántulas anormales – semillas duras – semillas frescas – semillas muertas.

5.9 Indicación de los resultados

El resultado de análisis de germinación debe ser reportado en los espacios correspondientes en la siguiente manera:

– La duración real de la prueba (en días, excluido el período de tratamiento especial o método utilizado para promover la germinación);
– Los porcentajes, calculados al número más cercano entero (5.8.2) de plántulas normales, semillas duras, semillas frescas, plántulas anormales y semillas muertas. Si el resultado de cualquiera de estas categorías se encuentra es cero, debe ser reportado como (0);
– Si el solicitante pide que se termine la prueba cuando la muestra alcanza un porcentaje de germinación predeterminado, antes del conteo final, entonces sólo se pondrá el porcentaje de plántulas normales. Los resultados de las otras categorías (plántulas anormales, semillas duras, semillas frescas y semillas muertas) deben ser reportados como (N), porque no han sido determinadas.

Debe ser reportada, bajo “Otras determinaciones” *(Other determinations)*, la siguiente información:

– el número de semillas analizadas, si hay menos de 400 semillas;
– el método de germinación, utilizando las abreviaturas utilizadas en la Tabla 5A, incluyendo al menos sustrato y temperatura;
– cualquier tratamiento especial o método utilizado para promover la germinación (5.6.3);
– duración en días de cualquier tratamiento especial o método utilizado para promover la germinación, excepto el caso de prealmacenamiento;
– el porcentaje de germinación obtenido dentro del plazo establecido, si el período de germinación ha sido extendido más allá del plazo indicado en la Tabla 5A. Se debe introducir la declaración en la siguiente manera: (Después del período prescrito de ... días, habían ...% plántulas normales);
– el método para la evaluación de las semillas frescas (disección, tetrazolio o embriones escindidos - véase el párrafo 5.6.5.3) donde un 5 % o más de las semillas frescas se cree que están presentes;
– si el solicitante pide que se termine la prueba de germinación cuando la muestra alcanza un porcentaje de germinación predeterminado, la siguiente declaración: (A petición del solicitante, se dio por terminado el ensayo de germinación después de ... días. El período de prueba que se establece es de ... días).

Cuando se prescriben en la Tabla 5A Parte 2 los dobles análisis, se reporta en el espacio correspondiente en el Certificado ISTA el resultado del primer ensayo, con el tratamiento para romper la dormancia y el resultado de la segunda prueba, sin necesidad del tratamiento para romper la dormancia, es reportado en “Otras determinaciones” *(Other determinations)*.

Previa solicitud, se puede reportar la siguiente información de la siguiente manera:

– el resultado de los análisis paralelos o cualquier ensayo adicional;
– los resultados de otros ensayo hechos cuando sea necesario un reanálisis;
– la viabilidad de las semillas no germinadas y el método utilizado para determinarlas;
– las categorías de semillas germinadas (enumeradas en 5.6.5.3) y el método utilizado para determinarlas;
– en el caso de unidades de semillas múltiples: el número de plántulas normales producidas por 100 unidades y la proporción de unidades productoras de uno, dos o más de dos plántulas normales.

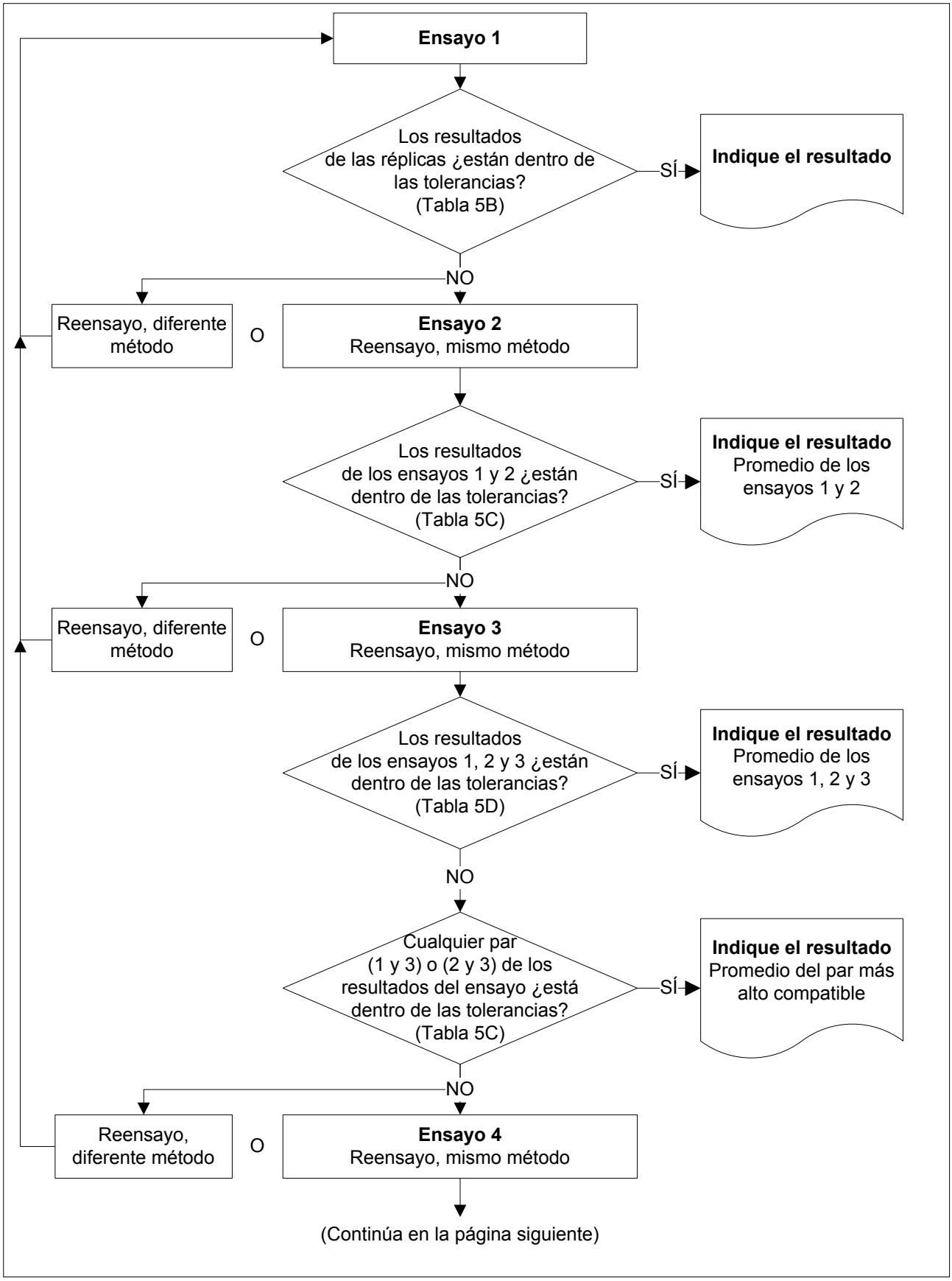


Figura 5.3. Diagrama de flujo para ilustrar el procedimiento de repetición de ensayos cuando las réplicas de analisis y ensayos repetidos están fuera de la tolerancia.

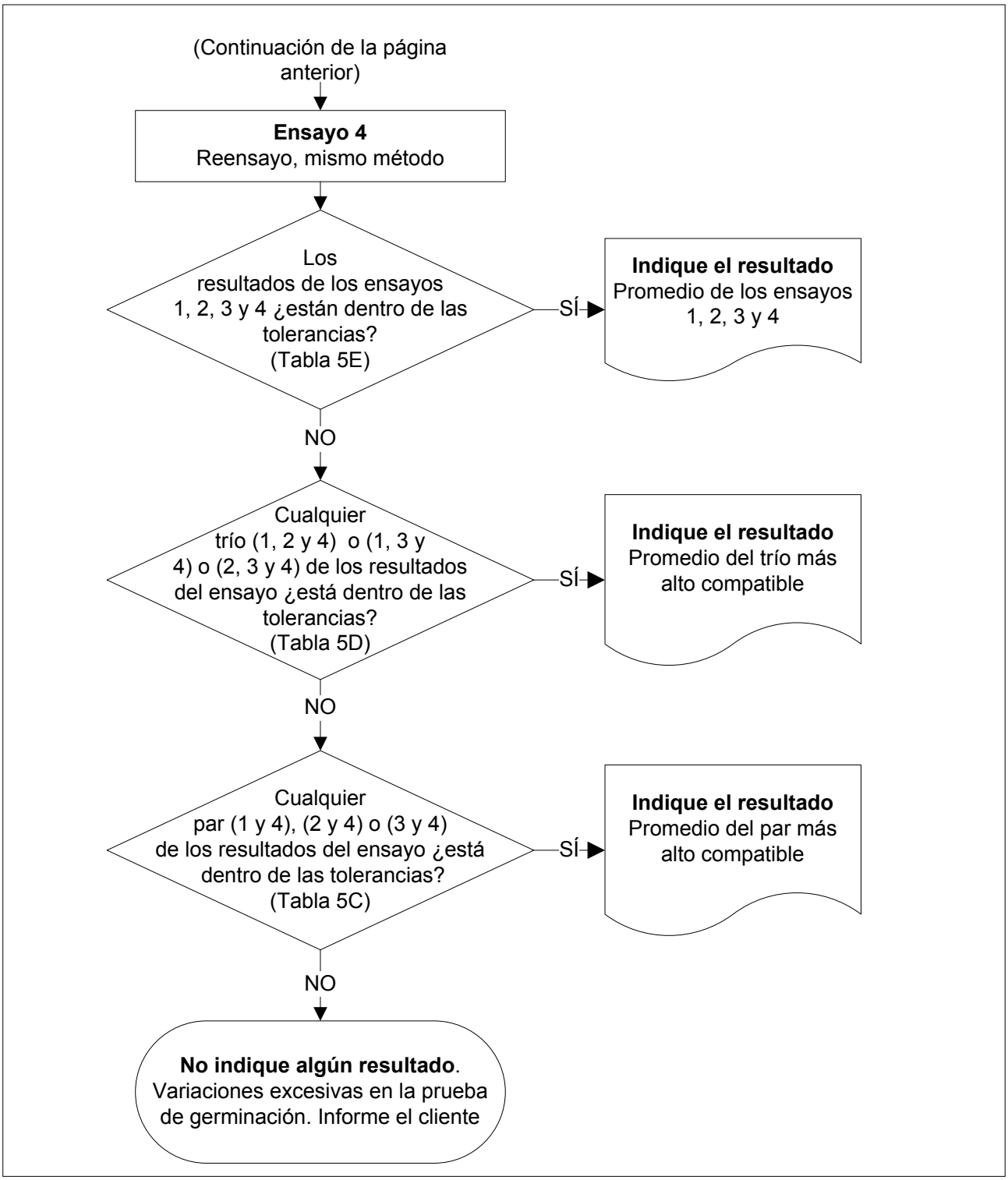


Figura 5.3. (Cont.) Diagrama de flujo para ilustrar el procedimiento de repetición de ensayos cuando las réplicas de análisis y ensayos repetidos están fuera de la tolerancia.

5.10 Métodos de germinación

La tabla 5A indica los sustratos prescritos, las temperaturas y la duración del ensayo, procedimientos recomendados para romper la dormancia, instrucciones y asesoramientos adicionales. Donde se prescribe para un grupo de especies, se pueden considerar a cubrir sólo aquellas especies que figuran específicamente en la Tabla 2A.

Para ciertas especies en la Tabla 5A Parte 2, son obligatorios los (dobles ensayos) (con y sin estratificación en frío), como se indica en la columna 6. Se colocan entre paréntesis métodos menos deseables, por ejemplo TTZ (o EET).

Sustratos: La secuencia de sustratos alternativos no indica ninguna referencia: TP; BP; TPS; S; O.

BP y TP pueden ser sustituidos por PP (papel plissado).

Temperaturas: La secuencia de temperaturas alternativas es la misma en todas partes y no indica ninguna preferencia: alternancia de temperaturas, primera la más alta; temperaturas constantes, primera la más alta. Regímenes de temperatura alterna se indican mediante los símbolos (<=>) entre las temperaturas; por ejemplo 20<=>30 es un régimen de temperatura alterna de 20 °C durante 16 h y 30 °C durante 8 h.

Primer conteo: El tiempo para el primer conteo es aproximado y se refiere a la temperatura alternativa más alta en sustratos de papel. Si se elige una temperatura alternativa más baja o cuando el ensayo se realiza en la arena, el primer conteo puede ser retrasado. Para las pruebas en la arena con un recuento final después de 07-10 (14) días, se puede omitir el primer conteo por completo.

Luz: Se recomienda la iluminación de los ensayos generalmente para plántulas mejor desarrolladas.

Si en ciertos casos se requiere la luz para promover la germinación de las muestras latentes, esto se indica en la columna 6. Si la luz es inhibidora de la germinación y se deben mantener los sustratos en la oscuridad, esto se indica en la columna 7.

Si se iluminan pruebas durante un régimen de temperatura alterna, por lo general es, como mínimo, para la duración de la mayor de las dos temperaturas, es decir, para 8 h en un régimen de 20<=>30 de temperatura alterna.

Métodos de ruptura de la dormancia: Dónde está indicado más de un método para romper una dormancia, la secuencia de los métodos alternativos no indica ninguna preferencia y se puede utilizar cualquier método o combinación de métodos. Sin embargo, si se utiliza el presecado o el H_2SO_4 en combinación con cualquier otro método, deben usarse antes de los otros métodos.

Abreviaciones

Para más detalles, véase 5.6.2 y 5.6.3.

BP entre papel
PP papel plisado
TP superficie de papel
TPS superficie de papel cubierta con arena

S arena
TS superficie de arena

O sustratos orgánico
TO superficie de sustratos orgánicos

EET ensayo de los embriones escindidos
GA_3 use una solución de ácido giberélico en lugar de agua
HNO_3 remoje las semillas en 1 M de ácido nítrico antes del ensayo de germinación
H_2SO_4 remoje las semillas en ácido sulfúrico concentrado antes de la prueba de germinación

KNO_3 use una solución de 0,2 % de nitrato de potasio en lugar de agua
TTZ ensayo de tetrazolio

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Abelmoschus esculentus	TP; BP; S	20⇔30	4	21	–	–	–
Achillea millefolium	TP	20⇔30	5	14	–	–	–
Aeschynomene americana	TP	20⇔35; 20⇔30	4	14	–	–	–
Agropyron cristatum	TP	20⇔30; 15⇔25	5	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Agropyron desertorum	TP	20⇔30; 15⇔25	5	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Agrostis canina	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Agrostis capillaris	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Agrostis gigantea	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Agrostis stolonifera	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Allium cepa	TP; BP; S	20; 15	6	12	Preenfriado	–	–
Allium fistulosum	TP; BP; S	20; 15	6	12	Preenfriado	–	–
Allium porrum	TP; BP; S	20; 15	6	14	Preenfriado	–	–
Allium schoenoprasum	TP; BP; S	20; 15	6	14	Preenfriado	–	–
Allium tuberosum	TP	20⇔30; 20	6	14	Preenfriado	–	–
Alopecurus pratensis	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Alysicarpus vaginalis	BP	35	4	21	Agujere el tegumento de las semillas hinchadas en 21 días y continue el ensayo por 35 d. Las semillas hinchadas pueden ser colocadas a 20 °C durante 2 d, después a 35 °C durante 3d	–	–
Andropogon gayanus	TP	20⇔35	7	14	KNO_3; luz	–	–
Andropogon gerardi	TP	20⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Andropogon hallii	TP	20⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Anethum graveolens	TP; BP	20⇔30; 10⇔30	7	21	Preenfriado	–	–
Anthoxanthum odoratum	TP	20⇔30	6	14	–	–	–
Anthriscus cerefolium	TP; BP	20⇔30	7	21	Preenfriado	–	–
Anthyllis vulneraria	TP; BP	20	5	10	Preenfriado	–	–
Apium graveolens	TP	20⇔30	10	21	KNO_3; preenfriado; luz	–	–
Arachis hypogaea	BP; S	20⇔30; 25	5	10	Quite las cáscaras; precaliente a 40 ±2 °C	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Arctium lappa	BP; TP	20⇔30; 20	14	35	Preenfriado	–	Es aconsejable el TTZ para las semillas con profunda dormancia
Arrhenatherum elatius	TP	20⇔30	6	14	Preenfriado	–	–
Asparagus officinalis	TP; BP; S	20⇔30	10	28	–	–	–
Astragalus cicer	BP; TP	15⇔25; 20	10	21	–	–	–
Astrebla lappacea	TP	32	7	14	KNO_3	–	–
Atriplex hortensis	TP; BP	20⇔30	7	28	–	–	–
Atropa belladonna	TP; BP	20⇔30	10	28	Preenfriado	–	–
Avena nuda	BP; S	20	5	10	Precalentado de 30–35 °C; preenfriado	–	–
Avena sativa	BP; S	20	5	10	Precalentado de 30–35 °C; preenfriado	–	–
Avena strigosa	BP; S	20	5	10	GA_3; preenfriado	–	–
Axonopus compressus	TP	20⇔35	10	21	KNO_3; luz	–	–
Axonopus fissifolius	TP	20⇔35	10	21	KNO_3; luz	–	–
Beckmannia eruciformis	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Beta vulgaris	TP; BP; S	20⇔30; 15⇔25; 20	4	14	Prelavado (multigermen: 2 h; monogermen genético: 4 h); secar al máximo 25 °C	–	–
Borago officinalis	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	–	–	–
Bothriochloa insculpta	TP	20⇔35	3	21	KNO_3; luz	–	–
Bothriochloa pertusa	TP	20⇔35	3	21	KNO_3; luz	–	–
Bouteloua gracilis	TP	20⇔30; 15⇔30	7	28	KNO_3	–	–
Brachiaria brizantha	TP	20⇔35	7	21	Precalentado; KNO_3	–	–
Brachiaria decumbens	TP	20⇔35	7	21	H_2SO_4; KNO_3; luz	–	–
Brachiaria humidicola	TP	20⇔35	7	21	KNO_3	–	–
Brachiaria mutica	TP	20⇔35	7	21	H_2SO_4; KNO_3	–	–
Brachiaria ramosa	BP	20⇔30	4	14	Precalentado; KNO_3	–	–
Brachiaria ruziziensis	TP	20⇔35	7	21	H_2SO_4; KNO_3	–	–
Brassica juncea	TP	20⇔30; 20	5	7	KNO_3; preenfriado	–	–
Brassica napus	BP; TP	20⇔30; 20	5	7	KNO_3; preenfriado	–	–
Brassica napus var. *napobrassica*	BP; TP	20⇔30; 20	5	14	Preenfriado	–	–
Brassica nigra	BP; TP	20⇔30; 20	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Brassica oleracea	BP; TP	20⇔30; 20	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Brassica perviridis	BP; TP	20⇔30; 20	5	7	Preenfriado	–	–
Brassica rapa	BP; TP	20⇔30; 20	5	7	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus arvensis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus carinatus	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus catharticus	TP	20⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus erectus	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus hordeaceus	TP	20⇔30	7	14	Preenfriado	–	–
Bromus inermis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus marginatus	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus riparius	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Bromus sitchensis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	Preenfriado	–	–
Cajanus cajan	BP; S	20⇔30; 25	4	10	–	–	–
Calopogonium mucunoides	TP	25; 20	3	10	–	–	–
Camelina sativa	TP	20⇔30	4	10	–	–	–
Cannabis sativa	TP; BP	20⇔30; 20	3	7	–	–	–
Capsicum spp.	TP; BP; S	20⇔30	7	14	KNO_3	–	–
Carthamus tinctorius	TP; BP; S	20⇔30; 25	4	14	–	–	–
Carum carvi	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Cenchrus ciliaris	TP; S	20⇔35; 20⇔30	7	28	Precalentado; KNO_3; preenfriado	–	–
Cenchrus setiger	TP	20⇔35	3	14	Precalentado a 40 ±2 °C; KNO_3	–	–
Centrosema pascuorum	TP	35	3	7	–	–	–
Centrosema molle	TP	20⇔35	4	10	–	–	–
Chamaecrista rotundifolia	TP	20⇔30	4	14	–	–	–
Chloris gayana	TP	20⇔35; 20⇔30	7	14	KNO_3; preenfriado; luz	–	Se permiten tam bién ensayos realizados por réplicas pesadas (Capítulo 13 Tabla 13B)
Cicer arietinum	BP; S	20⇔30; 20	5	8	–	–	–
Cichorium endivia	TP	20⇔30; 20	5	14	KNO_3	–	–
Cichorium intybus	TP	20⇔30; 20	5	14	KNO_3	–	–
Citrullus lanatus	BP; S	20⇔30; 25	5	14	–	–	PP recomendado
Claytonia perfoliata	BP	10	7	21	–	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Corchorus capsularis	TP; BP	30	3	5	–	–	–
Corchorus olitorius	TP; BP	30	3	5	–	–	–
Coriandrum sativum	TP; BP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Crambe abyssinica	TP; BP	20⇔30; 20	4	7	KNO_3	–	–
Crotalaria brevidens	BP	20⇔30	4	10	–	–	–
Crotalaria juncea	BP; S	20⇔30	4	10	–	–	–
Crotalaria lanceolata	BP	20⇔30	4	10	–	–	–
Crotalaria pallida	BP	20⇔30	4	10	–	–	–
Crotalaria spectabilis	BP	20⇔30	4	10	–	–	–
Cucumis melo	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucumis sativus	TP; BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucumis spp.	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucurbita maxima	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucurbita moschata	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucurbita pepo	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucurbita spp.	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cucurbita (híbridos)	BP; S	20⇔30; 25	4	8	–	–	PP recomendado
Cuminum cyminum	TP	20⇔30	5	14	–	–	–
Cyamopsis tetragonoloba	BP	20⇔30	5	14	–	–	–
Cynara cardunculus	BP; S	15⇔20; 20	7	21	–	–	–
Cynodon dactylon	TP	20⇔35; 20⇔30	7	21	KNO_3; preenfriado; luz	–	–
Cynosurus cristatus	TP	20⇔30	10	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Dactylis glomerata	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Daucus carota	TP; BP	20⇔30; 20	7	14	–	–	–
Deschampsia cespitosa	TP	20⇔30; 20	7	16	KNO_3; preenfriado	–	–
Deschampsia flexuosa	TP	20⇔30; 20	7	16	KNO_3; preenfriado	–	–
Desmodium intortum	TP	20⇔30	4	10	H_2SO_4	–	–
Desmodium uncinatum	TP	20⇔30	4	10	H_2SO_4	–	–
Dichanthium aristatum	TP	20⇔35	7	21	KNO_3	–	–
Dichondra micrantha	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Digitaria eriantha	TP	20⇔30	4	10	–	–	–
Echinochloa crus-galli	TP	20⇔30; 25	4	10	Precalentado (40 ±2 °C)	–	–
Ehrharta calycina	TP	20	7	21	Preenfriado	–	–
Eleusine coracana	TP	20⇔30	4	8	KNO_3	–	–
Elymus trachycaulus	TP	20⇔30; 15⇔25	5	14	KNO_3; preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Elytrigia elongata	TP	20⇔30; 15⇔25	5	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Elytrigia intermedia	TP	20⇔30; 15⇔25	5	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Elytrigia repens	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Eragrostis curvula	TP	20⇔35; 15⇔30	6	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Eragrostis tef	TP	20⇔30	4	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Eruca sativa	TP; BP	20	4	7	–	–	–
Fagopyrum esculentum	TP; BP	20⇔30; 20	4	7	–	–	–
Festuca arundinacea	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca filiformis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca heterophylla	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca ovina	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca pratensis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca rubra	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Festuca trachyphylla	TP	20⇔30; 15⇔25	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
×*Festulolium* spp.	TP	20⇔30; 15⇔25; 20	5	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Foeniculum vulgare	TP; BP; TS	20⇔30	7	14	–	–	–
Fragaria spp.	TP	20⇔30; 20	7	28	–	–	–
Galega orientalis	TP; BP	20	5	14	–	–	–
Glycine max	BP; TPS; S	20⇔30; 25	5	8	–	–	–
Gossypium spp.	BP; S	20⇔30; 25	4	12	–	–	–
Hedysarum coronarium	TP; BP	20⇔30; 20	7	14	–	–	–
Helianthus annuus	BP; TPS; S; O	20⇔30; 25; 20	4	10	Precalentado; preenfriado	–	–
Hibiscus cannabinus	BP; S	20⇔30	4	8	–	–	–
Holcus lanatus	TP	20⇔30	6	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Hordeum vulgare	BP; S	20	4	7	Precalentado (30–35 °C); GA_3; KNO_3; preenfriado	–	–
Ipomoea aquatica	BP; S	30	4	10	–	–	–
Koeleria macrantha	TP	20⇔30	5	14	Preenfriado 8–10 °C durante 5 d; luz	–	–
Kummerowia stipulacea	BP	20⇔35	5	14	–	–	–
Kummerowia striata	BP	20⇔35	7	14	–	–	–
Lablab purpureus	BP; S	20⇔30; 25	4	10	–	–	–
Lactuca sativa	TP; BP	20	4	7	Preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Lagenaria siceraria	BP; S	20⇔30	4	14	–	–	PP recomendado
Lathyrus cicera	S	20	5	10	–	–	–
Lathyrus hirsutus	BP; S	20	7	14	–	–	–
Lathyrus sativus	BP; S	20	5	14	–	–	–
Lens culinaris	BP; S	20	5	10	Preenfriado	–	–
Lepidium sativum	TP	20⇔30; 20	4	10	Preenfriado	–	–
Lespedeza juncea	BP	20⇔35	7	21	–	–	–
Leucaena leucocephala	TP; BP	25	4	10	Corte la semilla	–	–
Linum usitatissimum	TP; BP	20⇔30; 20	3	7	Preenfriado	–	–
Listia bainesii	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Lolium ×hybridum	TP	20⇔30; 15⇔25; 20	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Lolium multiflorum	TP	20⇔30; 15⇔25; 20	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Lolium perenne	TP	20⇔30; 15⇔25; 20	5	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Lolium rigidum	TP	20⇔30; 15⇔25	5	14	KNO_3; luz; preenfriado 5–10 °C durante 7 d; si necesario preenfriado durante 3 d y continue el ensayo con 15⇔25 °C durante otros 4 d	–	–
Lotus corniculatus	TP; BP	20⇔30; 20	4	12	Preenfriado	–	–
Lotus tenuis	TP; BP	20⇔30; 20	4	12	Preenfriado	–	–
Lotus uliginosus	TP; BP	20⇔30; 20	4	12	Preenfriado	–	–
Luffa acutangula	BP; S	30	4	14	–	–	–
Luffa aegyptiaca	BP; S	20⇔30; 30	4	14	–	–	–
Lupinus albus	BP; S	20	5	10	Preenfriado	–	–
Lupinus angustifolius	BP; S	20	5	10	Preenfriado	–	–
Lupinus luteus	BP; S	20	10	21	Preenfriado	–	–
Macroptilium atropurpureum	TP	25	4	10	H_2SO_4	–	–
Macroptilium lathyroides	TP	25	4	10	H_2SO_4	–	–
Macrotyloma axillare	BP	25	4	10	H_2SO_4 o corte la semilla	–	–
Macrotyloma uniflorum	TP; S	20⇔30; 25	4	10	Corte la semilla	–	–
Medicago arabica	TP; BP	20	4	14	–	–	–
Medicago italica	TP; BP	20; 15	4	14	–	–	–
Medicago littoralis	TP	20	4	14	–	–	–
Medicago lupulina	TP; BP	20	4	10	Preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Medicago orbicularis	TP; BP	20	4	10	Preenfriado	–	–
Medicago polymorpha	TP; BP	20	4	14	–	–	–
Medicago rugosa	TP; BP	20	4	14	–	–	–
Medicago sativa	TP; BP	20	4	10	Preenfriado	–	–
Medicago scutellata	TP; BP	20	4	14	–	–	–
Medicago truncatula	TP; BP	20	4	10	–	–	–
Melilotus albus	TP; BP	20	4	7	Preenfriado	–	–
Melilotus indicus	TP; BP	20	3	14	–	–	–
Melilotus officinalis	TP; BP	20	4	7	Preenfriado	–	–
Melinis minutiflora	TP	20⇔30	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Momordica charantia	BP; S	20⇔30; 30	4	14	–	–	–
Mucuna pruriens	TP; S	20⇔30; 30	3	14	Cortar la semilla	–	–
Nasturtium officinale	TP; BP	20⇔30	4	14	–	–	–
Neonotonia wightii	TP	20⇔30; 10⇔35	4	10	–	–	–
Nicotiana tabacum	TP	20⇔30	7	16	KNO_3	–	–
Ocimum basilicum	TP	20⇔30	4	14	KNO_3	–	–
Oenothera biennis	TP	20⇔30; 20	7	21	KNO_3	–	–
Onobrychis viciifolia	TP; BP; S	20⇔30; 20	4	14	Preenfriado	–	–
Origanum majorana	TP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Origanum vulgare	TP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Ornithopus compressus	TP	15	7	21	–	–	–
Ornithopus sativus	TP; BP	20	7	14	–	–	–
Oryza sativa	TP; BP; S	20⇔30; 25	5	14	Precalentado (50 ±2 °C); remoje en agua o HNO_3 durante 24 h	–	–
Panicum antidotale	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Panicum coloratum	TP	20⇔35	7	28	–	–	–
Panicum maximum	TP	20⇔30; 15⇔35	10	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Panicum miliaceum	TP; BP	20⇔30; 25	3	7	–	–	–
Panicum virgatum	TP	15⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Papaver somniferum	TP	20	5	10	Preenfriado	–	–
Pascopyrum smithii	TP	20⇔30; 15⇔25	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Paspalum dilatatum	TP	20⇔35	7	28	KNO_3; luz	–	–
Paspalum notatum	TP	20⇔35; 20⇔30	7	28	H_2SO_4; KNO_3	–	–
Paspalum plicatulum	TP	20⇔35	7	28	KNO_3; luz	–	–
Paspalum scrobiculatum	TP	20⇔30	7	20	KNO_3	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Paspalum urvillei	TP	20⇔35	7	21	KNO_3	–	–
Paspalum virgatum	TP	20⇔35	7	28	KNO_3	–	–
Pastinaca sativa	TP; BP	20⇔30	6	28	–	–	–
Pennisetum clandestinum	TP	20⇔35; 20⇔30	7	14	KNO_3; preenfriado	–	–
Pennisetum glaucum	TP; BP	20⇔35; 20⇔30	3	7	–	–	–
Petroselinum crispum	TP; BP	20⇔30; 20	10	28	–	–	–
Phacelia tanacetifolia	TP; BP	20⇔30; 20; 15	5	14	Preenfriado	Obscuridad	–
Phalaris aquatica	TP	20⇔30; 20	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Phalaris arundinacea	TP	20⇔30	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Phalaris canariensis	TP; BP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Phaseolus coccineus	BP; S	20⇔30; 20	5	9	–	–	–
Phaseolus lunatus	BP; S	20⇔30; 25	5	9	–	–	–
Phaseolus vulgaris	BP; TPS; S	20⇔30; 25; 20	5	9	–	–	–
Phleum nodosum	TP	20⇔30; 15⇔25	7	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Phleum pratense	TP	20⇔30; 15⇔25	7	10	KNO_3; preenfriado	–	–
Physalis pubescens	TP	20⇔30	7	28	KNO_3	–	–
Pimpinella anisum	TP; BP	20⇔30	7	21	–	–	–
Piptatherum miliaceum	S	15	7	42	Preenfriado	–	–
Pisum sativum	BP; TPS; S	20	5	8	–	–	–
Plantago lanceolata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	–	–	–
Poa annua	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa bulbosa	TP	15⇔25	10	35	KNO_3	–	–
Poa compressa	TP	15⇔25; 10⇔30	10	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa nemoralis	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	10	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa palustris	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	10	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa pratensis	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	10	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa secunda	TP	20⇔30; 15⇔25; 10⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Poa trivialis	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Portulaca oleracea	TP; BP	20⇔30	5	14	Preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Psathyrostachys juncea	TP	20⇔30	5	14	Preenfriado	–	–
Pseudoroegneria spicata	TP	20⇔30; 15⇔25	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
Psophocarpus tetragonolobus	BP; S	20⇔30; 30	4	14	–	–	–
Pueraria lobata	BP	20⇔30	5	14	–	–	–
Pueraria phaseoloides	TP	25	4	10	H_2SO_4	–	–
Raphanus sativus	TP; BP; S	20⇔30; 20	4	10	Preenfriado	–	–
Rheum rhaponticum	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Ricinus communis	BP; S	20⇔30	7	14	–	–	–
Rosmarinus officinalis	TP	20⇔30; 20	7	28	–	–	–
Rumex acetosa	TP	20⇔30	3	14	Preenfriado	–	–
Sanguisorba minor	TP; BP	20⇔30; 20	7	28	–	–	–
Satureja hortensis	TP	20⇔30	5	21	–	–	–
Schizachyrium scoparium	TP	20⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Scorzonera hispanica	TP; BP; S	20⇔30; 20	4	8	Preenfriado	–	–
Secale cereale	TP; BP; S	20	4	7	GA_3; preenfriado	–	–
Securigera varia	TP; BP	20	7	14	–	–	–
Sesamum indicum	TP	20⇔30	3	6	–	–	–
Setaria italica	TP; BP	20⇔30	4	10	–	–	–
Setaria sphacelata	TP	20⇔35	7	21	KNO_3	–	–
Sinapis alba	BP; TP	20⇔30; 20	3	7	Preenfriado	–	–
Solanum lycopersicum	TP; BP; S	20⇔30	5	14	KNO_3	–	–
Solanum (sect. *Lycopersicon*) spp.	TP; BP; S	20⇔30	5	14	KNO_3	–	–
Solanum (sect. *Lycopersicon*) (híbridos)	TP; BP; S	20⇔30	5	14	KNO_3	–	–
Solanum melongena	TP; BP; S	20⇔30	7	14	–	–	–
Solanum nigrum	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Solanum tuberosum	TP	20⇔30	3	14	Embibe en 1,5 % GA_3 durante 24 h	–	–
Sorghastrum nutans	TP	20⇔30	7	28	KNO_3; preenfriado	–	–
Sorghum ×almum	TP; BP	20⇔35; 20⇔30	5	21	Preenfriado	–	–
Sorghum bicolor	TP; BP	20⇔30; 25	4	10	Preenfriado	–	–
Sorghum bicolor × *S. sudanense*	TP; BP	20⇔30	4	10	Preenfriado	–	–
Sorghum halepense	TP; BP	20⇔35; 20⇔30	7	35	–	–	–
Sorghum sudanense	TP; BP	20⇔30	4	10	Preenfriado	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Spergula arvensis	TP	20	4	10	–	–	–
Spinacia oleracea	TP; BP	15; 10	7	21	Preenfriado	–	–
Stylosanthes guianensis	TP	20⇔35; 20⇔30	4	10	H_2SO_4	–	–
Stylosanthes hamata	TP	20⇔35; 10⇔35	4	10	Corte la semilla	–	–
Stylosanthes humilis	TP	20⇔30; 10⇔35	2	5	Corte la semilla	–	–
Stylosanthes scabra	TP	20⇔35	4	10	Corte la semilla	–	–
Taraxacum officinale	TP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Tetragonia tetragonoides	BP; S	20⇔30; 20	7	35	Retire la pulpa; remoje en agua durante 24 horas	–	–
Thymus vulgaris	TP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Tragopogon porrifolius	TP; BP	20	5	10	Preenfriado	–	–
Trifolium alexandrinum	TP; BP	20	3	7	–	–	–
Trifolium campestre	TP; BP	20	4	14	–	–	–
Trifolium dubium	TP; BP	20	5	14	Preenfriado	–	–
Trifolium fragiferum	TP; BP	20	3	7	–	–	–
Trifolium glomeratum	TP; BP	20	4	10	–	–	–
Trifolium hirtum	TP; BP	20	4	10	–	–	–
Trifolium hybridum	TP; BP	20	4	10	Sobre sellado de polietileno; preenfriado	–	–
Trifolium incarnatum	TP; BP	20	4	7	Sobre sellado de polietileno; preenfriado	–	–
Trifolium lappaceum	TP; BP	20	3	7	Preenfriado	–	–
Trifolium michelianum	TP	20; 15	4	10	Preenfriado	–	–
Trifolium pratense	TP; BP	20	4	10	Preenfriado	–	–
Trifolium repens	TP; BP	20	4	10	Sobre sellado de polietileno; preenfriado	–	–
Trifolium resupinatum	TP; BP	20	4	7	–	–	–
Trifolium semipilosum	BP; S	20; 15	3	7	–	–	–
Trifolium squarrosum	TP; BP	20; 15	4	14	Preenfriado	–	–
Trifolium subterraneum	TP; BP	20; 15	4	14	–	Obscuridad	–
Trifolium vesiculosum	TP; BP	20; 15	4	10	–	–	–
Trigonella foenum-graecum	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	–	–	–
Trisetum flavescens	TP	20⇔30	7	21	KNO_3; preenfriado	–	–
×*Triticosecale*	TP; BP; S	20	4	8	Precalentado (30–35 °C); GA_3; preenfriado	–	–
Triticum aestivum	TP; BP; S	20	4	8	Precalentado (30–35 °C); GA_3; preenfriado	–	–
Triticum dicoccon	TP; BP; S	20	4	8	Precalentado (30–35 °C); GA_3; preenfriado	–	–
Triticum durum	TP; BP; S	20	4	8	Precalentado (30–35 °C); GA_3; preenfriado	–	–
Triticum spelta	BP; S	20	4	8	Precalentado (30–35 °C); GA_3; preenfriado	–	–
Urochloa mosambicensis	TP	20⇔35	7	21	GA_3; KNO_3	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 1. Métodos detallados para los ensayos de germinación: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Valerianella locusta	TP; BP	20; 15	7	28	GA_3; preenfriado	–	–
Vicia benghalensis	BP	20	5	10	–	–	–
Vicia ervilia	BP; S	20	5	8	–	–	–
Vicia faba	BP; S; O	20	4	14	Preenfriado	–	–
Vicia narbonensis	BP; S	20	5	10	–	–	–
Vicia pannonica	BP; S	20	5	10	Preenfriado	–	–
Vicia sativa	BP; S	20	5	14	Preenfriado	–	–
Vicia villosa	BP; S	20	5	14	Preenfriado	–	–
Vigna angularis	BP; S	20⇔30	4	10	–	–	–
Vigna marina	BP	20⇔30	4	8	–	–	–
Vigna mungo	BP; S	20⇔30; 25; 20	4	7	–	–	–
Vigna radiata	BP;S	20⇔30; 25	5	7	–	–	–
Vigna subterranea	BP; S	20⇔30; 30; 25	5	10	–	–	–
Vigna unguiculata	BP; S	20⇔30; 25	5	8	–	–	–
Zea mays	BP; TPS; S	20⇔30; 25; 20	4	7	–	–	–
Zoysia japonica	TP	20⇔35	10	28	KNO_3	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos

Para algunas especies, los (dobles ensayos) (con y sin preenfriado) son obligatorios (ver columna 7).
Métodos y procedimientos entre paréntesis son menos deseables

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Abies alba, *Abies balsamea,* *Abies cilicica,* *Abies firma,* *Abies fraseri,* *Abies homolepis,* *Abies lasiocarpa,* *Abies magnifica,* *Abies numidica,* *Abies sachalinensis*	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 21 d	–	–
Abies amabilis, *Abies cephalonica,* *Abies concolor,* *Abies grandis,* *Abies nordmanniana,* *Abies pinsapo,* *Abies procera,* *Abies veitchii*	TP	20⇔30	7	28	–	Doble ensayo: no preenfriado y preenfriado 21 d	–
Acacia spp.	TP	20⇔30; (20)	7	21	1. Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h 2. (Remoje las semillas durante 1 h en concentrado H_2SO_4, lave la semilla a fondo en agua corriente)	–	–
Acer campestre	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Acer negundo, *Acer platanoides,* *Acer pseudoplatanus,* *Acer saccharum*	S; TP	20	7	21	Preenfriado durante 2 meses. Es ventajoso eliminar pericarpio antes del ensayo. Semillas no secadas y recién cosechadas son generalmente más dormientes de las secadas y/o almacenadas	–	–
Acer palmatum	S; TP	20	7	21	Preenfriado durante 4 meses. Es ventajoso eliminar pericarpio antes del ensayo	–	TTZ (o EET) recomendado
Acer rubrum, *Acer saccharinum*	S; (TP)	20	7	21	–	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Aesculus hippocastanum	TS; (S)	20⇔30; (20)	7	21	Remoje en agua durante 48 h; corte la cicatriz final de la semilla. No quite el tegumento en la parte que se siembra. Nueces frescas pueden requerir preenfriado	–	–
Ailanthus altissima	TP	20⇔30	7	21	La eliminación del pericarpio después de la inmersión durante 24 h en agua, puede acelerar la germinación	–	–
Alnus cordata, Alnus glutinosa, Alnus incana, Alnus rubra	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Amorpha fruticosa	TP	20⇔30	10	28	Luz	–	–
Berberis aquifolium	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Betula papyrifera	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Betula pendula	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo: no preenfriado y preenfriado 21 d	Se permiten también ensayos realizados por repeticiones pesadas (Capítulo 13)
Betula pubescens	TP	20⇔30	7	21	–	–	Se permiten también ensayos realizados por repeticiones pesadas (Capítulo 13)
Calocedrus decurrens	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 28 d	–	Se recomienda TTZ (o EET) para las semillas con profunda dormancia
Caragana arborescens	TP	20⇔30	7	21	Agujere la semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h	–	–
Carpinus betulus	S	20	14	42	Incube en sustrato húmedo durante 1 mes a 20 °C seguido de 4 meses de 1–5 °C	–	TTZ recomendado
Castanea sativa	TS; (S)	20⇔30	7	21	Remoje en agua durante 48 h; corte la cicatriz final de la semilla y quite el tegumento	–	–
Catalpa spp.	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Cedrela spp.	TP	20⇔30	7	28	–	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Cedrus atlantica, Cedrus deodora, Cedrus libani	TP	20; (20⇔30)	7	21	Preenfriado 21 d	–	–
Chamaecyparis lawsoniana	TP	20; (20⇔30)	7	28	–	–	–
Chamaecyparis nootkatensis	TP	20; (20⇔30)	7	28	Preenfriado 21 d	–	–
Chamaecyparis obtusa	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Chamaecyparis pisifera	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Chamaecyparis thyoides	TP	20	7	28	Preenfriado 90 d	–	TTZ recomendado
Cornus sanguinea	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Corylus avellana	S	20; 20⇔30	14	35	Quite el pericarpio y preenfriado durante 2 meses	–	TTZ recomendado
Corymbia spp.	–	–	–	–	–	Todas las *Corymbia* spp. analizadas con el método de las réplicas pesadas (véase C. 13, Tabla 13A)	–
Cotoneaster spp.	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Crataegus monogyna	S	20⇔30	7	28	Incube en sustrato húmedo durante 3 meses a 25 °C, seguido por 9 meses de preenfriado	–	TTZ recomendado
Cryptomeria japonica	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Cupressus arizonica	TP	20⇔30	7	28	–	Doble ensayo: no preenfriado y preenfriado 21 d	–
Cupressus macrocarpa	TP	20⇔30	14	35	–	–	–
Cupressus sempervirens	TP	20	7	28	–	–	–
Cydonia oblonga	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Cytisus scoparius	TP	20⇔30	7	28	Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h	–	–
Elaeagnus angustifolia	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Eucalyptus spp.	–	–	–	–	–	Todas los *Eucalyptus* spp. analizadas con el método de las réplicas pesadas (véase C. 13, Tabla 13A)	–
Euonymus europaeus	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 45 d	–	TTZ recomendado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Fagus sylvatica	TP	5	–	–	Duración del ensayo depende de la dormancia y en caso extremo podría requerir aproximadamente 24 semanas	–	Profunda dormancia: TTZ recomendado
Fraxinus spp.	TP	20⇔30	14	56	Semillas pretratadas 2 meses a 20 °C y en seguida 7 meses de 1 a 5 °C	–	TTZ (o EET) recomendado
Ginkgo biloba	TP; BP	20⇔30; 20	10	30	Quite la cubierta de la semilla	–	–
Gleditsia triacanthos	TP	20	7	21	1. Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 6 h 2. Remoje toda la semilla en H_2SO_4 concentrado por el tiempo que sea necesario a picar la superficie del tegumento y, después, lavar bien con agua corriente	–	–
Ilex aquifolium	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Juniperus communis	TP; S	20	14	28	Preenfriado 90 d	–	TTZ recomendado
Juniperus scopulorum	TP; S	15	14	42	Pretrate 60 d a 20 °C después 40 d a 1–5 °C	–	TTZ recomendado
Juniperus virginiana	TP; S	15	14	28	Pretrate 60 d a 20 °C después 45 d a 1–5 °C	–	TTZ recomendado
Koelreuteria paniculata	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Laburnum alpinum, Laburnum anagyroides	TP	20⇔30	7	21	1. Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h 2. Remoje toda la semilla en H_2SO_4 concentrado por el tiempo que sea necesario a picar la superficie del tegumento y, después, lavar bien con agua corriente	–	–
Larix decidua, Larix ×eurolepis, Larix gmelinii, Larix laricina, Larix sibirica	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Larix kaempferi, Larix occidentalis	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 21 d	–
Ligustrum vulgare	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Liquidambar styraciflua	TP	20⇔30	7	21	Sensible a secado durante el ensayo	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Liriodendron tulipifera	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 60 d	–	TTZ recomendado
Malus spp. (excepto *M. sylvestris, M. sargentii*)	–	–	–	–	–	Utilice TTZ (o EET)	–
Malus sargentii, Malus sylvestris	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Malva sylvestris	TP	20⇔30; 20	7	21	–	–	–
Morus spp.	TP	20⇔30	14	28	–	–	–
Nothofagus obliqua	TP	20⇔30	7	28	–	Doble ensayo: con y sin preenfriado durante 28 d	–
Nothofagus procera	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Picea abies, Picea engelmannii, Picea koyamai, Picea mariana, Picea omorika, Picea orientalis, Picea polita, Picea pungens, Picea rubens	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Picea glauca, Picea glehnii, Picea jezoensis, Picea sitchensis	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 21 d	–
Pinus albicaulis	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 28 d	–	–
Pinus aristata	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Pinus banksiana	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Pinus bruita	TP	20	7	28	–	–	–
Pinus canariensis	TP	20	7	28	–	–	–
Pinus caribaea	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus cembra	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 6–9 meses	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus cembroides	S	20	7	28	Preenfriado 21 d	–	–
Pinus clausa	TP; (TS)	20	7	21	–	–	Sensible a exceso de humedad
Pinus contorta	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 21 d	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Pinus coulteri	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 60–90 jours	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus densiflora	TP	20⇔30	7	21	Preenfriado 14 d	–	–
Pinus echinata	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Pinus edulis	TP	20⇔30	7	28	Luz durante 16 horas o más	–	–
Pinus elliottii	TP	20⇔30; 22	7	28	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 14 d	–
Pinus flexilis	TP	20⇔30	7	21	Preenfriado 21 d	–	–
Pinus glabra	TP	20⇔30	7	21	Preenfriado 21 d	–	–
Pinus halepensis	TP	20	7	28	–	–	–
Pinus heldreichii	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 42 jours	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus jeffreyi	TP; (S)	20⇔30	7	28	Preenfriado 28 d	–	Profunda dormancia utilice TTZ (o EET)
Pinus kesiya	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus koraiensis	S	20⇔30	7	28	Pretratar 2 meses a 25 °C seguido de 3 meses a 1–5 °C	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus lambertiana	TP; (S)	20⇔30	7	28	Preenfriado 60–90 d	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus merkusii	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus monticola	TP	20⇔30	7	28	Preenfriado 60–90 d	–	TTZ (o EET) recomendado
Pinus mugo	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus muricata	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus nigra	TP	20⇔30	7	21	–	–	Las plántulas pueden ser lo suficientemente desarrolladas para finalizar el ensayo en una cuenta intermedia de 14 días
Pinus oocarpa	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus palustris	S; (TP)	20	7	21	–	–	–
Pinus parviflora	TP; (S)	20⇔30	7	28	Preenfriado 6–9 meses		TTZ (o EET) recomendado
Pinus patula	TP	20; (20⇔30)	7	21	–	–	–
Pinus peuce	TP; (S)	20⇔30	7	28	Preenfriado 6 meses	–	TTZ (o EET) recomendado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Pinus pinaster	TP	20	7	35	–	Doble ensayo: no preenfriado y preenfriado para 28 d. Luz para máx. 16 h por día	Profunda dormancia TTZ recomendado
Pinus pinea	TP	20	7	28	Remoje en agua durante 24 h	–	–
Pinus ponderosa	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 28 d	–
Pinus pumila	S	20⇔30	7	21	Preenfriado 4 meses	–	TTZ recomendado
Pinus radiata	TP	20	7	28	–	–	–
Pinus resinosa	TP	20⇔30; (25)	7	14	–	–	–
Pinus rigida	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Pinus strobus	TP	20⇔30; 20	7	28	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 28 d	Profunda dormancia TTZ recomendado
Pinus sylvestris	TP	20⇔30; (20)	7	21	Procedencias Orientales y del Mediterráneo pueden requerir preenfriado durante 21 d	–	–
Pinus tabuliformis	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Pinus taeda	TP	20⇔30; 22	7	28	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 28 d	–
Pinus taiwanensis	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus thunbergii	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus virginiana	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Pinus wallichiana (*P. excelsa*)	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Platanus spp.	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Platycladus orientalis	TP	20	7	21	–	–	–
Populus spp.	TP	20⇔30	3	10	–	–	–
Prunus avium, Prunus padus, Prunus serotina	S	20⇔30; (20)	7	28	Preenfriado 3–4 meses	–	TTZ (o EET) recomendado
Pseudotsuga menziesii	TP	20⇔30	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 21 d	–
Pyrus spp.	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 3–4 meses	–	TTZ (o EET) recomendado
Quercus spp.	TS; (S)	20	7	28	Remoje las semillas en agua durante 48 horas, corte al final de la cicatriz de la semilla y quite el pericarpio	–	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Robinia pseudoacacia	TP	20⇔30	7	14	1. Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h 2. Remoje toda la semilla en H_2SO_4 concentrado por el tiempo que sea necesario a picar la superficie del tegumento y, después, lavar bien con agua corriente	–	–
Rosa spp. (excepto *R. multiflora*)	S	20	35	70	Preenfriado 12 meses	–	TTZ recomendado
Rosa multiflora	T	10⇔30	7	28	Preenfriado 28 d	–	TTZ recomendado
Salix spp.	TP	20⇔30	7	14	–	–	–
Sequoia sempervirens	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Sequoiadendron giganteum	TP	20⇔30	7	28	–	–	–
Sorbus spp.	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 4 meses	–	TTZ recomendado
Spartium junceum	TP	20	7	14	Agujere las semillas; o fragmente o lime un fragmento del tegumento al final del cotiledón; luego remoje durante 3 h	–	–
Styphnolobium japonica	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Syringa reflexa	TP	20	7	21	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 27 d	–
Syringa villosa	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Syringa vulgaris	TP	20	7	21	–	–	–
Taxodium distichum	S	20⇔30 (20)	7	28	Preenfriado 30 d	–	Profunda dormancia: TTZ recomendado
Taxus spp.	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 9 meses	–	TTZ recomendado
Tectona grandis	S	30	14	28	Remoje en agua y deje secar durante 3d. Repita esto 6 veces	–	–
Thuja occidentalis	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Thuja plicata	TP	20⇔30	7	21	–	–	–
Tilia cordata, Tilia platyphyllos	S	20⇔30	7	28	Preenfriado 6–9 meses	–	TTZ (o EET) recomendado
Tsuga canadensis	TP	15	7	28	Preenfriado 28 d	–	–
Tsuga heterophylla	TP	20	7	35	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 21 d	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 2. Métodos detallados de los ensayos de germinación: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Conteo final (d)	Recomendaciones para romper la dormancia	Direcciones adicionales	Consejos adicionales
1	2	3	4	5	6	7	8
Ulmus americana, Ulmus parviflora, Ulmus pumila	TP	20⇔30; (20)	7	14	Se puede eliminar el pericarpio	–	–
Viburnum opulus	–	–	–	–	–	Utilice TTZ	–
Zelkova serrata	TP	10⇔30	7	28	–	Doble ensayo con y sin preenfriado durante 14 d	–

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Abutilon ×hybridum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	–
Achillea clavennae	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	Luz
Achillea filipendulina	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	Luz
Achillea ptarmica	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	Luz
Achillea umbellata	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	Luz
Adonis vernalis	TP; BP	15; 10	7–14	35	KNO_3; preenfriado
Ageratum houstonianum	TP	20⇔30; 20	3–5	14	–
Agrimonia eupatoria	TP	20⇔30	7–14	60	Remoje en agua durante 24 h; astille o lime fragmento de tegumento
Alcea rosea	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla o astille o lime fragmento de tegumento al final del cotiledón
Althaea (híbridos)	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla o astille o lime fragmento de tegumento al final del cotiledón
Althaea officinalis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	–
Alyssum argenteum	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Alyssum montanum	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Amaranthus caudatus	TP	20⇔30; 20	4–5	14	KNO_3; preenfriado
Amaranthus cruentus	TP	20⇔30; 20	4–5	14	KNO_3; preenfriado
Amaranthus hybridus	TP	20⇔30; 20	4–5	14	KNO_3; preenfriado
Amaranthus tricolor	TP	20⇔30; 20	4–5	14	KNO_3; preenfriado
Amberboa moschata	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado
Ammobium alatum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	14	–
Anagallis arvensis	TP	20⇔30; 15	7–10	21	KNO_3; preenfriado
Anchusa azurea	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	–
Anchusa capensis	TP; BP	20⇔30; 15	5–7	21	–
Anemone coronaria	TP	20; 15	7–14	28	Preenfriado
Anemone pulsatilla	TP	20; 15	7–14	28	Preenfriado
Anemone sylvestris	TP	20; 15	7–14	28	Preenfriado
Angelica archangelica	TP; BP	20⇔30	7–10	28	Preenfriado; luz
Antirrhinum majus	TP	20⇔30; 20	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Aquilegia alpina	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	28	Preenfriado; luz
Aquilegia canadensis	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	28	Preenfriado; luz
Aquilegia chrysantha	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	28	Preenfriado; luz
Aquilegia ×cultorum	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	28	Preenfriado; luz
Aquilegia vulgaris	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	28	Preenfriado; luz
Arabis alpina	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Arabis ×arendsii	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Capítulo 5: Análisis de germinación

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Arabis blepharophylla	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Arabis caucasica	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Arabis procurrens	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Arabis scopoliana	TP	20⇔30; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Arctotis stoechadifolia	TP; BP	20⇔30; 20; 15	7	21	Luz
Armeria maritima	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	KNO_3
Artemisia absinthium	TP	20⇔30	4–7	21	–
Artemisia dracunculus	TP	20⇔30	4–7	21	–
Artemisia maritima	TP	20⇔30	4–7	21	–
Artemisia vulgaris	TP	20⇔30	4–7	21	–
Asclepias tuberosa	TP	20⇔30	7	28	–
Asparagus aethiopicus	TP; BP; S	20⇔30; 20	7–14	35	Remoje en agua durante 24 h
Asparagus plumosus	TP; BP; S	20⇔30; 20	7–14	35	Remoje en agua durante 24 h
Aster alpinus	TP	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Aster amellus	TP	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Aster dumosus	TP	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Aubrieta deltoidea	TP	20; 15; 10	7	21	Preenfriado
Aurinia saxatilis	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Bassia scoparia	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	GA_3; preenfriado
Begonia Grupo Semperflorens-Cultorum	TP	20⇔30; 20	7–14	21	Preenfriado
Begonia ×tuberhybrida	TP	20⇔30; 20	7–14	21	Preenfriado
Bellis perennis	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Brachyscome iberidifolia	TP	20⇔30; 15	4–7	14	–
Briza maxima	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Browallia viscosa	TP; BP	20⇔30; 20	7	21	–
Brunnera macrophylla	TP; BP	20⇔30; 20	7	21	–
Calceolaria ×herbeohybrida	TP	20⇔30; 15	7	21	KNO_3; preenfriado
Calceolaria polyrrhiza	TP	20⇔30; 15	7	21	KNO_3; preenfriado
Calendula officinalis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado; KNO_3; luz
Callistephus chinensis	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Luz
Campanula carpatica	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula fragilis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula garganica	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula glomerata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula lactiflora	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Campanula medium	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula persicifolia	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula portenschlagiana	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula pyramidalis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Campanula rapunculus	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Celosia argentea	TP	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Centaurea benedicta	TP; BP; S	20⇔30	7	21	Preenfriado
Centaurea cyanus	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Centaurea gymnocarpa	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Centaurea imperialis	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Centaurea macrocephala	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Centaurea montana	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Centaurea ragusina	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Cerastium tomentosum	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3
Chelidonium majus	TP	20⇔30	7–14	28	Preenfriado
Chrysanthemum indicum	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Clarkia amoena	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	14	Preenfriado; luz
Clarkia pulchella	TP	20⇔30; 15	3–5	14	Preenfriado; luz
Clarkia unguiculata	TP	20⇔30; 15	3–5	14	Preenfriado; luz
Cleome hassleriana	TP	20⇔30; 20	7	28	KNO_3
Cobaea scandens	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	–
Coix lacrymajobi	BP	20⇔30	7–10	21	–
Coleostephus multicaulis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Consolida ajacis	TP; BP	20; 15; 10	7–10	21	Preenfriado
Consolida regalis	TP; BP	20; 15; 10	7–10	21	Preenfriado
Convolvulus tricolor	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento
Coreopsis basalis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Coreopsis lanceolata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Coreopsis maritima	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Coreopsis tinctoria	TP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Cosmos bipinnatus	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	KNO_3; preenfriado; luz
Cosmos sulphureus	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	KNO_3; preenfriado; luz
Cyclamen persicum	TP; BP; S	20; 15	14–21	35	KNO_3; remoje en agua durante 24 h
Cymbalaria muralis	TP	15; 10	4–7	21	Preenfriado
Cynoglossum amabile	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Dahlia pinnata	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado
Datura metel	TP; BP; S	20⇔30; 20	5–7	21	Lime las semillas duras; preenfriado
Datura stramonium	TP; BP; S	20⇔30; 20	5–7	21	Lime las semillas duras; preenfriado
Delphinium ×belladonna	TP; BP	20⇔15; 10	7–10	21	Preenfriado; luz
Delphinium cardinale	TP; BP	20; 15; 10	7–10	21	Preenfriado
Delphinium ×cultorum	TP; BP	20; 15; 10	7–10	21	Preenfriado; luz
Delphinium formosum	TP; BP	20⇔15; 10	7–10	21	Preenfriado; luz
Delphinium grandiflorum	TP; BP	20; 15; 10	7–10	21	Preenfriado; luz
Dianthus barbatus	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Dianthus caryophyllus	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Dianthus chinensis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Dianthus deltoides	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Dianthus plumarius	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Digitalis lanata	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Digitalis purpurea	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Dimorphotheca pluvialis	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Dimorphotheca tragus	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Doronicum orientale	TP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Dorotheanthus bellidiformis	TP; BP	20; 15	5–7	35	KNO_3; preenfriado
Echinacea purpurea	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Echinops ritro	TP; BP	20⇔30	7–14	21	–
Echium candicans	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	–
Echium plantagineum	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	–
Erigeron speciosus	TP	20⇔30; 20	7	28	–
Erysimum cheiri	TP	20⇔30; 20; 15	4–5	14	KNO_3; preenfriado; luz
Erysimum ×marshallii	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Eschscholzia californica	TP; BP	15; 10	4–7	14	KNO_3
Fatsia japonica	TP	20⇔30; 20	7–14	28	–
Freesia refracta	TP; BP	20; 15	7–10	35	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento; preenfriado
Gaillardia aristata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Gaillardia pulchella	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Galega officinalis	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	Remoje en agua durante 24 h
Galeopsis segetum	TP; BP	20⇔30; 20	7	21	Preenfriado; lime las semillas duras
Gazania rigens	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	Preenfriado
Gentiana acaulis	TP	20⇔30; 20	7–14	28	Preenfriado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Geranium (híbridos)	TP; BP	20⇔30	7	28	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento
Gerbera jamesonii	TP	20⇔30; 20	4–7	14	–
Geum coccineum	TP; BP	20⇔30; 20	7–10	21	Luz
Geum quellyon	TP; BP	20⇔30; 20	7–10	21	Luz
Gilia tricolor	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	14	–
Glandularia canadensis	TP	20⇔30; 15	7–10	28	KNO_3; preenfriado
Glebionis carinata	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Glebionis coronaria	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Glebionis segetum	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	Preenfriado
Gomphrena globosa	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3
Goniolimon tataricum	TP; BP	15; 10	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Grevillea robusta	TP	20⇔30	7–10	28	KNO_3; preenfriado
Gypsophila elegans	TP; BP	20; 15	4–7	14	Luz
Gypsophila paniculata	TP; BP	20; 15	4–7	14	Luz
Gypsophila repens	TP; BP	20; 15	4–7	14	Luz
Helenium autumnale	TP; BP	20⇔30; 20	5	14	–
Helianthemum nummularium	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	28	KNO_3
Helianthus debilis	TP; BP; S	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Heliopsis helianthoides	TP; BP	20⇔30	4–7	21	Remoje en agua durante 24 h; KNO_3
Heliotropium arborescens	TP	20⇔30; 20	7	21	–
Hesperis matronalis	TP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Heteranthemis viscidehirta	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Heuchera sanguinea	TP	20⇔30; 20	7	21	KNO_3; preenfriado
Hibiscus trionum	TP; BP	20⇔30	4–7	21	–
Hippeastrum (híbridos)	TP; BP	20⇔30	7–10	28	–
Hypericum perforatum	TP	20⇔30; 20	4–7	21	–
Hyssopus officinalis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Luz
Iberis amara	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Iberis gibraltarica	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Iberis sempervirens	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Iberis umbellate	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Impatiens balsamina	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado; luz
Impatiens walleriana	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado; luz
Inula helenium	TP	20⇔30; 20	7–10	28	–
Ipomoea alba	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Ipomoea purpurea	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento
Ipomoea quamoclit	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento
Ipomoea tricolor	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento
Jacobaea maritima	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Kalanchoe blossfeldiana	TP	20⇔30; 20	7–14	21	–
Kalanchoe crenata	TP	20⇔30; 20	14	21	–
Kalanchoe globulifera	TP	20⇔30; 20	7–14	21	–
Kniphofia uvaria	TP	20⇔30	4–7	21	–
Lathyrus latifolius	TP; BP; S	20	7–10	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento al final del cotiledón; preenfriado
Lathyrus odoratus	TP; BP; S	20	5–7	14	Preenfriado
Lavandula angustifolia	TP; BP; S	20⇔30; 20	7–10	21	GA_3; preenfriado
Lavatera trimestris	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Legousia speculum-veneris	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Leontopodium nivale	TP	20⇔30; 20	5	14	Preenfriado
Leonurus cardiaca	TP	20⇔30	5–7	42	Preenfriado
Leucanthemum maximum	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Leucanthemum vulgare	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Levisticum officinale	TP; BP	20⇔30; 20	10	21	–
Liatris pycnostachya	TP	20⇔30	5–7	28	–
Liatris spicata	TP	20⇔30	5–7	28	–
Lilium regale	TP; S	20⇔30; 20	7	28	–
Limonium bellidifolium	TP; BP	15; 10	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Limonium bonduellei	TP; BP; S	20; 15	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Limonium gerberi	TP; BP	15; 10	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Limonium sinuatum	TP; BP; S	15; 10	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Linaria bipartita	TP	15; 10	4–7	21	Preenfriado
Linaria maroccana	TP	15; 10	4–7	21	Preenfriado
Linaria vulgaris	TP	15; 10	4–7	21	Preenfriado
Linum flavum	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	KNO_3
Linum grandiflorum	TP; BP	20; 15; 10	4–7	21	KNO_3
Linum narbonense	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	KNO_3
Linum perenne	TP; BP	20; 15; 10	4–7	21	KNO_3
Lobelia cardinalis	TP	20⇔30; 20	7–14	21	KNO_3; preenfriado
Lobelia erinus	TP	20⇔30; 20	7–14	21	KNO_3; preenfriado
Lobularia maritima	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	KNO_3; preenfriado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Lomelosia caucasica	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado
Lonas annua	TP	20⇔30	4–5	14	–
Lunaria annua	TP; BP	20; 15	7	21	KNO_3; preenfriado
Lupinus hartwegii	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	Agujere la semilla, astille o lime fragmento de tegumento al final del cotiledón; preenfriado
Lupinus (híbridos)	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	–
Lupinus nanus	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	–
Lupinus polyphyllus	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	21	–
Malcolmia maritima	TP	20⇔30; 20; 15	4–5	14	KNO_3; preenfriado; luz
Malope trifida	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Marrubium vulgare	TP	20⇔30	5–7	21	Preenfriado
Matricaria chamomilla	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Matthiola incana	TP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Matthiola longipetala	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Melissa officinalis	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Mentha ×piperita	TP	20⇔30	7–14	21	KNO_3; preenfriado
Mimosa pudica	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	28	Remoje en agua durante 24 h
Mimulus cardinalis	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Mimulus cupreus	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Mimulus ×hybridus	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Mimulus luteus	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Mirabilis jalapa	TP; BP; S	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado; luz
Moluccella laevis	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	Preenfriado; luz
Myosotis (híbridos)	TP; BP	20⇔30; 20; 15	5–7	21	Preenfriado; luz
Myosotis scorpioides	TP; BP	20⇔30; 20; 15	5–7	21	Preenfriado; luz
Myosotis sylvatica	TP; BP	20⇔30; 20; 15	5–7	21	Preenfriado; luz
Nemesia strumosa	TP; BP	20; 15	5–7	21	Preenfriado; luz
Nemesia versicolor	TP; BP	20; 15	5–7	21	Preenfriado; luz
Nemophila maculata	TP; BP	15; 10	5–7	21	Preenfriado
Nemophila menziesii	TP; BP	15; 10	5–7	21	Preenfriado
Nepeta cataria	TP; BP	20⇔30; 20	7–14	28	Preenfriado
Nicotiana alata	TP	20⇔30; 20	5–7	14	KNO_3
Nicotiana ×sanderae	TP	20⇔30; 20	5–7	14	KNO_3
Nicotiana suaveolens	TP	20⇔30; 20	5–7	14	KNO_3
Nierembergia hippomanica	TP	20⇔30; 20	5–7	21	–
Nigella damascena	TP; BP	20⇔30; 20; 15	7–10	21	KNO_3; preenfriado; 15 °C a la obscuridad durante 14 d, después 20⇔30 °C

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Nigella hispanica	TP; BP	20⇔30; 20; 15	7–10	21	KNO_3; preenfriado; 15 °C a la obscuridad durante 14 d, después 20⇔30 °C
Nigella sativa	TP; BP	20⇔30; 20	7–10	21	KNO_3; preenfriado
Oenothera macrocarpa	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3
Osteospermum ecklonis	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Papaver alpinum	TP	15; 10	4–7	14	KNO_3
Papaver glaucum	TP	15; 10	4–7	14	KNO_3; luz
Papaver nudicaule	TP	15; 10	4–7	14	KNO_3; luz
Papaver orientale	TP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado
Papaver rhoeas	TP	20⇔30; 20; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Pelargonium Grupo Zonale	TP; BP	20⇔30; 20	7	28	Agujere la semilla o lime fragmento de tegumento
Penstemon barbatus	TP	20⇔30; 15	7	21	Preenfriado
Penstemon hartwegii	TP	20⇔30; 15	7	21	Preenfriado
Penstemon (híbridos)	TP	20⇔30; 15	7	21	Preenfriado
Pericallis cruenta	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Perilla frutescens	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	Preenfriado
Petunia ×atkinsiana	TP	20⇔30; 20	5–7	14	KNO_3; preenfriado
Phacelia campanularia	TP; BP	15; 10	3–5	21	KNO_3; preenfriado
Phlox drummondii	TP; BP	20⇔30; 20; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Phlox paniculata	TP; BP	20; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Phlox subulata	TP; BP	20; 15	5–7	21	KNO_3; preenfriado
Pholistoma auritum	TP; BP	15; 10	5–7	21	Preenfriado
Physalis alkekengi	TP	20⇔30	4–7	28	KNO_3; preenfriado; luz
Pimpinella major	TP; BP	20⇔30	7–10	21	Preenfriado
Pimpinella saxifraga	TP; BP	20⇔30	5–7	21	–
Plectocephalus americana	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Remoje en agua durante 24 h; preenfriado; luz
Plectranthus scutellarioides	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	Luz
Portulaca grandiflora	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz
Primula auricula	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula denticulata	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula elatior	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula japonica	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula ×kewensis	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula malacoides	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula obconica	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula praenitens	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Primula veris	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Primula vulgaris	TP	20⇔30; 20; 15	7–14	28	KNO_3; preenfriado
Psephellus dealbatus	TP; BP	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Psylliostachys suworowii	TP; BP	15; 10	5–7	21	Remoje en agua durante 24 h
Ranunculus asiaticus	TP; S	20; 15	7–14	28	–
Reseda odorata	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	14	Luz
Rheum palmatum	TP; BP	20⇔30; 20	7	21	–
Rhodanthe humboldtiana	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	21	Preenfriado
Rhodanthe manglesii	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	21	Preenfriado
Rhodanthe chlorocephala	TP; BP	20⇔30; 15	7–14	21	Preenfriado
Rudbeckia fulgida	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Rudbeckia hirta	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Ruta graveolens	TP; BP	20⇔30; 20	7	28	Preenfriado
Saintpaulia ionantha	TP	20⇔30; 20	7–14	28	–
Salpiglossis sinuata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado; luz
Salvia coccinea	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia farinacea	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia officinalis	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia patens	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia pratensis	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia sclarea	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia splendens	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Salvia viridis	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Sanvitalia procumbens	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	Preenfriado
Saponaria calabrica	TP; BP	15; 10	4–7	21	Preenfriado; luz
Saponaria ocymoides	TP; BP	15; 10	4–7	21	Preenfriado; luz
Saponaria officinalis	TP; BP	15; 10	4–7	21	Preenfriado; luz
Scabiosa atropurpurea	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Schefflera elegantissima	TP; BP	20⇔30	7–14	28	–
Schizanthus pinnatus	TP; BP	15; 10	4–7	14	Preenfriado
Senecio elegans	TP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Silene chalcedonica	TP	20⇔30; 20	5–10	21	Luz
Silene coronaria	TP	20⇔30	5–10	21	–
Silene pendula	TP; BP	20⇔30; 20	7–14	28	KNO_3
Silybum marianum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	21	Preenfriado

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Capítulo 5: Análisis de germinación

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Sinningia speciosa	TP	20⇔30; 20	7–14	28	Preenfriado
Solanum pseudocapsicum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	28	KNO_3; luz
Solanum giganteum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	28	KNO_3; luz
Solanum laciniatum	TP	20⇔30; 20	5–7	28	KNO_3
Solanum marginatum	TP; BP	20⇔30; 20	5–7	28	KNO_3; luz
Stachys macrantha	TP	20	7	14	–
Tagetes erecta	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	Luz
Tagetes patula	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	Luz
Tagetes tenuifolia	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	14	Luz
Tanacetum achilleifolium	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	Preenfriado; luz
Tanacetum cinerariifolium	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado
Tanacetum coccineum	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	21	KNO_3; preenfriado; luz
Tanacetum parthenium	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	Preenfriado; luz
Thunbergia alata	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	21	–
Thymus serpyllum	TP; BP	20⇔30; 20; 15	7	21	Luz
Torenia fournieri	TP	20⇔30	5–7	14	KNO_3
Tripleurospermum maritimum	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Tripleurospermum inodorum	TP	20⇔30; 20	4–7	14	Preenfriado
Tropaeolum majus	TP; BP; S	20⇔30; 20; 15	4–7	21	Preenfriado
Tropaeolum peltophorum	TP; BP; S	20; 15	4–7	21	Preenfriado
Tropaeolum peregrinum	TP; BP; S	20; 15	4–7	21	Preenfriado
Vaccaria hispanica	TP; BP	15⇔10	4–7	21	Preenfriado; luz
Valeriana officinalis	TP	20⇔30; 20	5–7	21	Preenfriado
Verbascum densiflorum	TP	20⇔30	4–7	21	Preenfriado
Verbascum phlomoides	TP	20⇔30	4–7	21	Preenfriado
Verbascum thapsus	TP	20⇔30	4–7	21	Preenfriado
Verbena bonariensis	TP	20⇔30; 15	7–10	28	KNO_3; preenfriado
Verbena Grupo *Hybrida*	TP	20⇔30; 20; 15	7–10	28	KNO_3; preenfriado
Verbena rigida	TP	20⇔30; 15	7–10	28	KNO_3; preenfriado
Vinca minor	TP	20⇔30; 20	4–7	14	–
Viola cornuta	TP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Viola odorata	TP	20; 10	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Viola tricolor	TP	20⇔30; 20	4–7	21	KNO_3; preenfriado
Xeranthemum annuum	TP; BP	20⇔30; 20	4–7	14	–
Xerochrysum bracteatum	TP; BP	20⇔30; 15	4–7	14	KNO_3; preenfriado; luz

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

Tabla 5A Parte 3. Métodos detallados de los ensyos de germinación: flores, especias, hierbas y especies medicinales (continuación)

Especie	Sustrato	Temperatura* (°C)	Primer conteo (d)	Último conteo (d)	Recomendaciones para romper la dormancia
1	2	3	4	5	6
Zinnia elegans	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	10	Preenfriado; luz
Zinnia haageana	TP; BP	20⇔30; 20	3–5	10	Preenfriado; luz

*Los símbolos (⇔) indican regímenes de temperatura alterna. Primera temperatura: 16 h; Segunda temperatura: 8h

5.11 Tablas de las tolerancias

La Tabla 5B da las diferencias máximas toleradas entre los porcentajes de germinación más altos y más bajos de las réplicas de una prueba de germinación, permitiendo sólo una variación aleatoria del muestreo a una probabilidad de 0,025.

Para determinar si un análisis es confiable, calcule el porcentaje de germinación promedio sobre todas las réplicas, al número entero más cercano. Si es necesario, con las pruebas de 400 o 200 semillas, pueden ser formadas cuatro o dos réplicas, respectivamente, de 100 semillas cada una, mediante la combinación de las subréplicas de 50 o 25 semillas que eran más cercanas en el germinador. En los ensayos de 100 semillas, pueden formarse dos réplicas de 50 semillas cada una mediante la combinación de las subréplicas de 25 semillas que eran más cercanas en el germinador y, multiplicar los resultados de cada una de las dos réplicas por 2, para obtener un porcentaje medio de germinación.

Busque el porcentaje medio de germinación en la parte apropiada de la tabla para el número de semillas analizadas, y lea la tolerancia en la columna contigua. Si la diferencia entre las réplicas más altas y más bajas no excede esta tolerancia, el análisis es fiable.

Las tolerancias para los ensayos con 400 y 200 semillas se extraen de la Tabla G1, columnas D y L, respectivamente, en Miles (1963). Las tolerancias para los ensayos con 100 semillas se calculan de acuerdo a Miles (1963).

Las Tablas 5C–5E dan las tolerancias para los porcentajes de plántulas normales, plántulas anormales, semillas muertas, semillas duras, semillas frescas o cualquier combinación de éstos, cuando los ensayos se realizan en la misma o una muestra remitida diferente en el mismo laboratorio. Para dos ensayos, utilice la Tabla 5C, para tres, Tabla 5D y, por cuatro, Tabla 5E.

Para determinar si los ensayos son compatibles, calcule el promedio de los resultados de los ensayos al número entero más cercano. Localice esto en la parte apropiada de la tabla para el número de semillas analizadas y lea la tolerancia en la columna contigua. Si la diferencia entre los resultados más altos y más bajos de los ensayos no excede de la tolerancia, las pruebas son compatibles.

Las fuentes para las tolerancias son las siguientes:

- ensayos con 2 × 400 semillas: extraídas de la tabla G2, columna L, en Miles (1963);
- ensayos con 2 x 200 y 2 x 100 semillas: derivadas de Miles (1963);
- ensayos con 3 × 400 semillas: extraídas de la tabla G2, columna H, en Miles (1963);
- ensayos con 3 x 200 y 3 x 100 semillas: derivadas de Miles (1963);
- ensayos con 4 × 400 semillas: extraídas de la tabla G2, columna D, en Miles (1963);
- ensayos con 4 × 200 y 4 × 100 semillas: derivadas de Miles (1963).

Miles, S. R. (1963). Handbook of Tolerances and of Measures of Precision for Seed Testing. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, **28** (3).

Tabla 5B. Tolerancias entre porcentajes de germinación más altos y más bajos de réplicas en un ensayo de germinación (*two-way test* con nivel de significación del 2,5 %)

Tabla 5B Parte 1. 4 réplicas de 100 semillas

Porcentaje medio de germinación del ensayo		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	5
98	3	6
97	4	7
96	5	8
95	6	9
93–94	7–8	10
91–92	9–10	11
89–90	11–12	12
87–88	13–14	13
84–86	15–17	14
81–83	18–20	15
78–80	21–23	16
73–77	24–28	17
67–72	29–34	18
56–66	35–45	19
51–55	46–50	20

Tabla 5B Parte 2. 2 réplicas de 100 semillas

Porcentaje medio de germinación del ensayo		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	4
98	3	5
96–97	4–5	6
95	6	7
93–94	7–8	8
90–92	9–11	9
88–89	12–13	10
84–87	14–17	11
81–83	18–20	12
76–80	21–25	13
69–75	26–32	14
55–68	33–46	15
51–54	47–50	16

Tabla 5B Parte 3. 2 réplicas de 50 semillas

Porcentaje medio de germinación del ensayo		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	5
98	3	7
97	4	8
96	5	9
95	6	10
94	7	11
92–93	8–9	12
90–91	10–11	13
89	12	14
86–88	13–15	15
84–85	16–17	16
81–83	18–20	17
78–80	21–23	18
74–77	24–27	19
70–73	28–31	20
63–69	32–38	21
51–62	39–50	22

Tabla 5C. Tolerancias entre los resultados de dos ensayos con la misma o diferente muestra remitida cuando los ensayos se realizan en el mismo laboratorio (*two-way test* con nivel de significación del 2,5 %)

Tabla 5C Parte 1. 2 ensayos de 400 semillas

Porcentaje medio de germinación de 2 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
98–99	2–3	2
95–97	4–6	3
91–94	7–10	4
85–90	11–16	5
77–84	17–24	6
60–76	25–41	7
51–59	42–50	8

Tabla 5C Parte 2. 2 ensayos de 200 semillas

Porcentaje medio de germinación de 2 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	2
98	3	3
96–97	4–5	4
94–95	6–7	5
91–93	8–10	6
87–90	11–14	7
82–86	15–19	8
75–81	20–26	9
64–74	27–37	10
51–63	38–50	11

Tabla 5C Parte 3. 2 ensayos de 100 semillas

Porcentaje medio de germinación de 2 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	4
98	3	5
96–97	4–5	6
95	6	7
93–94	7–8	8
90–92	9–11	9
88–89	12–13	10
84–87	14–17	11
81–83	18–20	12
76–80	21–25	13
69–75	26–32	14
55–68	33–46	15
51–54	47–50	16

Tabla 5D. Tolerancias entre los resultados de tres ensayos con la misma o con una diferente muestra remitida cuando los ensayos se realizan en el mismo laboratorio (*two-way test* con nivel de significación del 2,5 %)

Tabla 5D Parte 1. 3 ensayos de 400 semillas

Porcentaje medio de germinación de 3 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	2
97–98	3–4	3
94–96	5–7	4
90–93	8–11	5
85–89	12–16	6
78–84	17–23	7
66–77	24–35	8
51–65	36–50	9

Tableau 5D Partie 2. 3 ensayos de 200 semillas

Porcentaje medio de germinación de 3 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	3
97–98	3–4	4
96	5	5
94–95	6–7	6
91–93	8–10	7
88–90	11–13	8
84–87	14–17	9
79–83	18–22	10
72–78	23–29	11
60–71	30–41	12
51–59	42–50	13

Tableau 5D Partie 3. 3 ensayos de 100 semillas

Porcentaje medio de germinación de 3 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	4
98	3	5
97	4	6
96	5	7
95	6	8
93–94	7–8	9
91–92	9–10	10
89–90	11–12	11
87–88	13–14	12
84–86	15–17	13
81–83	18–20	14
77–80	21–24	15
71–76	25–30	16
64–70	31–37	17
51–63	38–50	18

Tabla 5E. Tolerancias entre los resultados de cuatro ensayos con la misma o con una diferente muestra remitida cuando los ensayos se realizan en el mismo laboratorio (*two-way test* con nivel de significación del 2,5 %)

Tabla 5E Parte 1. 4 ensayos de 400 semillas

Porcentaje medio de germinación de 4 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	2
97–98	3–4	3
95–96	5–6	4
92–94	7–9	5
88–91	10–13	6
82–87	14–19	7
74–81	20–27	8
60–73	28–41	9
51–59	42–50	10

Tabla 5E Parte 2. 4 ensayos de 200 semillas

Porcentaje medio de germinación de 4 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	3
98	3	4
97	4	5
95–96	5–6	6
93–94	7–8	7
90–92	9–11	8
87–89	12–14	9
83–86	15–18	10
78–82	19–23	11
72–77	24–29	12
61–71	30–40	13
51–60	41–50	14

Tabla 5E Parte 3. 4 ensayos de 100 semillas

Porcentaje medio de germinación de 4 ensayos		Tolerancia
51–100 %	0–50 %	
99	2	5
98	3	6
97	4	7
96	5	8
95	6	9
93–94	7–8	10
91–92	9–10	11
89–90	11–12	12
87–88	13–14	13
84–86	15–17	14
81–83	18–20	15
78–80	21–23	16
73–77	24–28	17
68–72	29–33	18
56–67	34–45	19
51–55	46–50	20

Capítulo 6: La prueba bioquímica para la viabilidad: el ensayo topográfico de tetrazolio

6.1 Objeto

Los objetos de los ensayos bioquímicos son:

a) para hacer una estimación rápida de la viabilidad de las muestras de semillas en general y las que muestran dormancia en particular;
b) en el caso de muestras particulares que al final de un ensayo de germinación revelan un alto porcentaje de semillas latentes (5.6.5), para determinar la viabilidad de las semillas individuales latentes o la viabilidad de una muestra de trabajo.

6.2 Definición

El ensayo topográfico de tetrazolio es una prueba bioquímica que puede ser utilizada para hacer una evaluación rápida de la viabilidad de las semillas: cuando las semillas deben ser sembradas poco después de la cosecha; en semillas con profunda dormancia; en las semillas que muestran germinación lenta; o en los casos en que se requiera una estimación muy rápida del potencial de germinación. También se puede utilizar: para determinar la viabilidad individual de las semillas al final de una prueba de germinación, sobre todo en caso de sospecha dormancia (véase 5.6.3); para detectar la presencia de brotación y varios tipos de daños de cosecha y/o daños de procesamiento (daños por calor, daños mecánicos, daños por insectos); y para resolver los problemas encontrados en un ensayo de germinación, por ejemplo, cuando no sean claras las razones de la presencia de semillas anormales, el tratamiento con pesticidas es sospechoso, etc.

Una semilla viable debe mostrar una coloración en todos los tejidos cuya viabilidad es necesaria para el normal desarrollo de las plántulas. Dependiendo de la especie, pueden ser aceptadas pequeñas áreas no teñidas en algunas partes de estos tejidos. Para los propósitos del ensayo, una semilla viable debe mostrar por su actividad bioquímica el potencial de producir una plántula normal. Una semilla no viable muestra deficiencias y/o anormalidades de naturaleza tal que se impida su desarrollo en una plántula normal.

El ensayo es válido para todas las especies para las que un método está descrito en la Tabla 6A. Si el resultado tiene que ser reportado sobre un certificado ISTA, el ensayo debe llevarse a cabo estrictamente de acuerdo con los métodos descritos en este capítulo.

El ensayo de tetrazolio es una herramienta versátil, que puede tener otras aplicaciones además que en la emisión de un certificado ISTA. Más información sobre este tipo de aplicaciones se puede encontrar en el Manual sobre el Ensayo de Tetrazolio (*Handbook on Tetrazolium Testing)* y en los Hojas ISTA de Trabajo sobre Ensayos de Tetrazolio (*ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing).*

6.3 Principios generales

En el ensayo topográfico de tetrazolio una solución incolora de cloruro de tetrazolio 2,3,5-trifenil o bromuro se utiliza como indicador para revelar los procesos de reducción que tienen lugar dentro de las células vivas. El indicador se embebe por la semilla. Dentro de los tejidos de la semilla interactúa con los procesos de reducción de las células vivas y acepta hidrógeno a partir de las deshidrogenasas. Por hidrogenación del cloruro de tetrazolio 2,3,5-trifenil, se produce en las células vivas una sustancia de color rojo, estable y no difusible, formazan de trifenilo. Esto hace que sea posible distinguir las partes vivas de color rojo de las semillas muertas, incoloras.

Además de semillas viables completamente teñidas y semillas no viables no teñidas por completo, se pueden producir semillas parcialmente teñidas. Proporciones variables de tejido necrótico se encuentran en diferentes zonas de estas semillas parcialmente teñidas. La posición y el tamaño de las áreas necróticas, y no necesariamente la intensidad del color, determinan si dichas semillas se clasifican como viables o no viables. Sin embargo, las diferencias de color junto con la solidez del tejido han de considerarse decisivas principalmente en la medida en que permitan el reconocimiento y la localización de tejido bueno, débil o muerto.

6.4 Reactivo

6.4.1 Solución de tetrazolio

Se utiliza una solución acuosa de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio o bromuro de 6.5 a 7.5 pH. La concentración normalmente utilizada debe ser 1,0 %; sin embargo, están permisibles porcentajes más altos o más bajos. En la preparación se debe utilizar agua destilada/desionizada y la solución de tetrazolio debe tener un pH entre 6,5 y 7,5. Si es necesario asegurar que el pH está dentro del rango requerido, se debe utilizar, como se describe en 6.4.2, un tampón de fosfato.

Cuando se utiliza un tampón, la cantidad correcta de sal de tetrazolio (ya sea cloruro o bromuro) se disuelve en el tampón para obtener una solución de la concentración correcta, por ejemplo, 1 g de sal de tetrazolio por 100 ml de tampón, da una solución al 1 %.

La solución de tetrazolio se puede almacenar en la oscuridad a 5–10 °C durante un período máximo de un año.

6.4.2 Solución tampón

Para conseguir el intervalo de pH correcto, puede ser necesario preparar la solución de tetrazolio en solución tampón de fosfato.

La solución tampón debe estar compuesta de la siguiente manera, utilizando agua destilada/desionizada.

Se preparan dos soluciones:

Solución 1: disolver 9,078 g de KH_2PO_4 en 1000 ml de agua destilada/desionizada;

Solución 2: se disuelven 9.472 g de Na_2HPO_4 en 1000 mL de agua destilada/desionizada, o disolver 11.876 g de $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ en 1000 mL de agua destilada/desionizada.

Mezclar dos partes de una solución 1 con tres partes de la solución 2 y comprobar el pH, el cual debe estar entre 6,5 y 7,5.

6.5 Procedimientos

6.5.1 Muestra de trabajo

Un ensayo completo debe llevarse a cabo en cuatro réplicas de 100 semillas puras extraídas al azar de cualquiera de las fracciones de semillas puras de un ensayo de pureza llevado a cabo según lo prescrito en el capítulo 3, o de una fracción representativa de la muestra remitida. La fracción de semilla pura se debe mezclar a fondo y se debe tener debido cuidado en la elaboración de las semillas para asegurar que no haya selección de semillas que podrían causar resultados sesgados (véase el capítulo 5 para los métodos de conteo de semillas). Un ensayo también puede llevarse a cabo en las semillas no germinadas individuales que se encuentran al final de un ensayo de germinación.

6.5.2 Preparación y tratamiento de la semilla

Las semillas deben ser preparadas con el fin de facilitar la penetración de la solución de tetrazolio.

6.5.2.1 Premojadura de la semilla

La premojadura es un paso previo necesario para la tinción de algunas especies y muy recomendable para las demás. Las semillas embebidas en general son menos frágiles que las semillas secas y se pueden cortar o perforar más fácilmente. Además, la tinción de las semillas prehumedecidas es más uniforme en color y esto facilita la evaluación. La capa debe ser perforada si la cubierta de la semilla dificulta la imbibición (por ejemplo *Fabaceae*). En la Tabla 6A se indica el período mínimo de premojadura. Si se utiliza una temperatura mayor (40 ±2 °C) o más baja a la recomendada, entonces el periodo de mojadura previa debe ajustarse en consecuencia, y debe ser reportada en el Certificado ISTA cualquier variación en el tiempo de humectación previa o de temperatura.

6.5.2.1.1 Mojadura lenta

Se deja que la semilla se embebe en la parte superior de o entre papel de acuerdo con el método utilizado para los ensayos de germinación (véase Tabla 5A). Se debe utilizar la técnica para aquellas especies que son propensas a fracturarse si se sumergen directamente en el agua. También pueden beneficiarse de la mojadura lenta las semillas viejas y secas de muchas especies.

En algunas especies, la mojadura lenta no dará lugar a plena imbibición y será necesario un nuevo período de remojo en agua.

6.5.2.1.2 Remojo en agua

Las semillas deben estar completamente sumergidas en agua y se dejan hasta que estén completamente embebidas. El agua debe ser cambiada si el período de remojo es más de 24 h.

La semilla debe ser empapada en agua a 20 °C durante 22 h si el porcentaje de semillas duras de las *Fabaceae* ha de ser determinado con el fin de emitir un certificado ISTA. Otros procedimientos pueden conducir a una excesiva variabilidad en los resultados.

6.5.2.2 Exposición de los tejidos antes de la tinción

Véase la Figura 6.1 para más detalles.

En muchas especies (véase la Tabla 6A) es necesario exponer los tejidos antes de la tinción para permitir una penetración más fácil de la solución de tetrazolio y para facilitar la evaluación. Los tejidos que deben ser examinados críticamente para establecer la viabilidad de una semilla se consideran (tejidos esenciales), mientras que los que son menos esenciales para este diagnóstico son (no esenciales). Se han estandarizado procedimientos para la exposición de los tejidos internos por lo que las lesiones inevitables causadas por la técnica de preparación pueden ser fácilmente reconocidas como tales durante la evaluación.

Se pueden abrir o quitar las cubiertas de las semillas usando una variedad de diferentes técnicas de preparación como se describe a continuación. Una vez preparadas, las semillas deben mantenerse húmedas hasta que se haya completado toda la réplica. Sólo entonces el duplicado se sumerge en la solución de tetrazolio.

Durante la premojadura algunos tipos de semillas producen mucílago pegajoso que dificulta aún más la preparación. El mucílago se puede reducir, ya sea por secado de

la superficie, frotando las semillas en paño o entre hojas de papel, o remojando las semillas en una solución de 1 a 2 % de sulfato de aluminio y potasio ($AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) durante 5 min después de una premojadura durante un período adecuado.

6.5.2.2.1 Perforación de la semilla

Las semillas premojadas o duras deben ser perforadas en una parte no esencial de la semilla usando una aguja o un bisturí afilado.

6.5.2.2.2 El corte longitudinal

- Para todos los cereales y las semillas herbosas del tamaño de *Festuca* spp. o mayor, debe hacerse un corte longitudinal a través de la mitad del eje embrionario y aproximadamente por tres cuartos de la longitud del endospermo.
- Para las semillas de especies dicotiledóneas sin endospermo y con un embrión recto debe hacerse un corte longitudinal a través de la mitad distal de los cotiledones, dejando el eje del embrión no cortado.
- En las semillas donde hay un embrión rodeado por tejido vivo, se puede hacer un corte longitudinal de forma segura cerca del embrión.

6.5.2.2.3 El corte lateral

El corte lateral se hace a través del tejido que no sea esencial utilizando escalpelos, cuchillas de afeitar, cortaúñas por perros o dispositivos similares.

- Semillas herbosas: haga un corte transversal inmediatamente por encima del embrión y sumerja el extremo del embrión en la solución de tetrazolio.
- Semillas dicotiledóneas con un embrión recto y sin endospermo: corte y deseche un fragmento de un tercio a dos quintas partes del extremo distal de los cotiledones.
- Semillas de coníferas: corte una pequeña fracción de los dos extremos, lo suficientemente grande para asegurar que la cavidad embrionaria se abra sin causar lesión grave al embrión.

6.5.2.2.4 Incisión transversa

Puede ser utilizada una incisión transversal como sustituto del corte transversal y es el método preferido para semillas herbosas pequeñas del tamaño de *Agrostis, Phleum* y *Poa*.

6.5.2.2.5 Escisión del embrión

Se puede usar la escisión del embrión para *Hordeum, Secale* y *Triticum*.

Se escinde el embrión con una lanceta de disección que se clava en el endospermo justo por encima del escutelo y un poco fuera del centro y luego se tuerce un poco para que el endospermo irrumpa en el sentido longitudinal. El embrión (con escutelo) se afloja del endospermo y puede ser recogido y transferido a la solución de tetrazolio.

6.5.2.2.6 La eliminación de la cubierta de la semilla

Cuando las técnicas de corte no sean apropiadas, debe ser removida toda la cubierta de la semilla (y cualquier otro tejido que cubra). Si los revestimientos exteriores de la semilla están duros, como en las nueces y drupas (frutos con hueso) pueden ser abiertos o agrietados sea cuando la semilla está seca, sea después de la premojadura, teniendo cuidado de no dañar el embrión. Las cubiertas de las semillas correosas pueden ser retiradas después de la premojadura dividiéndolas cuidadosamente con un escalpelo afilado o aguja para diseccionar y pelar.

6.5.2.3 Baja presión

El método de baja presión utiliza la presión inferior a la atmosférica para infiltrar rápidamente los tejidos de las semillas con la solución de tetrazolio.

Las semillas secas se preparan como se describe en la Tabla 6A, colocándolas en una solución de tetrazolio 1 % y se desgasificándolas a una presión inferior a la atmosférica de alrededor de 18662 Pa (140 Torr) durante 10 min. La presión se aumenta entonces lentamente durante 1 min a nivel atmosférico normal. Este tratamiento se repite tres veces.

6.5.3 Tinción

Las semillas o los embriones preparados deben estar completamente inmersos en la solución de tetrazolio. Las semillas pequeñas, que son difíciles de manejar, pueden ser premojadas y se preparan sobre una tira de papel, que se pliega o enrolla y se sumerge en la solución de tetrazolio.

La solución no debe ser expuesta a la luz directa ya que esto da lugar a una reducción de la sal de tetrazolio. La tabla 6A da detalles de las temperaturas óptimas y los tiempos de tinción.

Las temperaturas de tinción utilizadas pueden desviarse de los dados en la Tabla 6A, pero deben estar en el rango de 20-40 °C. Si no se utiliza la temperatura de tinción óptima de 30 °C, entonces se deben hacer los ajustes adecuados en la duración de tinción siendo que un aumento/disminución de 5 °C de la óptima de 30 °C reduce/aumenta el tiempo

de tinción a la mitad. Los períodos de tinción no se deben tomar como absolutos, debido a que pueden variar en función de la condición de la semilla. Con el tiempo y la experiencia, puede ser posible hacer la evaluación en una etapa anterior o posterior de la tinción.

El período de tinción puede prolongarse si las semillas se tiñen de forma incompleta con el fin de verificar si la falta de tinción es debida a la lenta absorción de la sal de tetrazolio en lugar de una indicación de defectos dentro de la semilla. Sin embargo, la tinción prolongada debe ser evitada ya que esto puede ocultar modelos de tinción diferenciales, que son indicativos de semillas débiles y daño específico como el causado por las heladas.

Para algunas especies se pueden añadir a la solución de tetrazolio pequeñas cantidades de fungicidas o antibióticos para evitar el desarrollo de una solución espumosa con un precipitado oscuro.

Al final del periodo de tinción se decanta la solución y la semilla se enjuaga con agua y se examina.

6.5.4 Evaluación

El objetivo principal de la prueba de tetrazolio es distinguir semillas viables y no viables.

Cada semilla es examinada y evaluada como viable o no viable sobre la base de los modelos de tinción y la solidez del tejido revelado. Procedimientos para la preparación, tratamiento y evaluación de cada especie aprobada se dan en 6.5.2.1, Tabla 6A y las Figuras 6.1-6.3.

Una semilla puede ser viable o no viable y esto deriva directamente de la importancia de los diferentes tejidos de las semillas responsables de la emergencia y el desarrollo en plántula normal, que es específico de la especie. Las semillas viables son las que muestran el potencial de producir plántulas normales. Tales semillas están teñidas por completo, o si teñidas sólo en parte, los patrones de tinción indican que las estructuras esenciales están viables.

Las semillas no viables son aquellas que no cumplen con estos requisitos y, además, incluye semillas que revelan poco su característica coloración y/o estructuras esenciales flácidas. Las semillas con el desarrollo obviamente anormal del embrión o de otras estructuras esenciales, deben ser consideradas como no viables ya sean teñidas o no. Los embriones rudimentarios de las semillas de las coníferas no son viables.

Las semillas duras son semillas con cubiertas de las semillas impermeables al agua (por ejemplo *Fabaceae*) y siguen siendo duras, incluso después de la premojadura. Si debe ser determinada la viabilidad de estas semillas, siga las instrucciones de la Tabla 6A Columna 8.

Con el fin de evaluar las semillas correctamente, es necesario exponer el embrión y otras estructuras esenciales. Luz apropiada y microscopio son indispensables para el examen adecuado. La mayoría de las semillas contienen tejidos esenciales y no esenciales. Las estructuras esenciales son los meristemos y todas las estructuras reconocidas como necesarias para el desarrollo de plántulas normales. Semillas bien desarrolladas y diferenciadas pueden tener la capacidad para reparar pequeñas necrosis. En este caso, una necrosis superficial, de extensión limitada, puede ser tolerada, incluso dentro del tejido esencial. La evaluación cuidadosa también puede hacer que sea posible distinguir diferentes categorías de semillas viables y no viables.

La viabilidad, medida por la prueba de tetrazolio, es una característica de calidad distinta y única de una semilla en reposo. La viabilidad es claramente independiente de la realización de un ensayo de germinación. Sin embargo, no habrá una diferencia significativa entre los porcentajes de viabilidad y de germinación sólo en el caso de que una semilla:

- no está inactiva ni dura, o que haya subido adecuado pretratamiento para romper la dormancia y la dureza de la semilla;
- no está infectada o haya sido desinfectada adecuadamente;
- no se haya atomizado en el campo, ni tratado durante el procesamiento o durante el almacenamiento fumigado con productos químicos nocivos;
- no haya brotado;
- no se haya deteriorado durante los ensayos de germinación de duración normal o extendida;
- haya germinado en condiciones óptimas.

6.6 Cálculo, indicación de los resultados y tolerancias

En el análisis de una muestra, se determina en cada réplica el número de semillas consideradas viables. Para comprobar la fiabilidad de un resultado de la prueba, el porcentaje medio de las réplicas se calcula al número entero más cercano y en comparación con la Tabla 6B. El resultado se considera fiable, si la diferencia entre el mayor y la réplica más baja no exceda de la tolerancia indicada. Los rangos máximos admisibles de las diferencias de las réplicas son los mismos que para los ensayos de germinación.

Para decidir si dos ensayos, que se han realizado de forma independiente en el mismo laboratorio son compatibles, utilice la Tabla 6C. Si los dos ensayos se llevaron a cabo en diferentes laboratorios, utilice la tabla 6D. Para ambas situaciones se calcula la viabilidad porcentual media de los dos ensayos. Los ensayos son compatibles si la diferencia entre los dos resultados no excede de la tolerancia indicada para el promedio calculado en la tabla respectiva.

6.7 Indicación de los resultados

El resultado de un ensayo de tetrazolio debe ser indicado en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* de la siguiente manera:

- Debe ser introducida la declaración de (Ensayo de Tetrazolio:…% de las semillas estaban viables).
- En los casos en que el procedimiento de ensayo se desvíe de la estipulada en la Tabla 6A, también se debe reportar cualquier procedimiento de desviación. Las únicas variaciones permitidas de los procedimientos dados en la Tabla 6A son por el tiempo de premojadura, la concentración de tetrazolio, la temperatura de tinción o el tiempo de tinción. En 6.5 se dan prescripciones precisas sobre la limitación de las variaciones.
- Si se ponen a análisis semillas individuales al final del ensayo de germinación, el resultado debe ser indicado de acuerdo con 1.5.2.6 y 5.9.

Además, en el caso de especies de *Fabaceae*, uno de los siguientes, y sólo uno, debe ser indicado:

o (en los casos en que no se haya determinado el porcentaje de viabilidad de la semilla dura): (Ensayo de tetrazolio: ...% de las semillas estaban viables, en el ensayo se han encontrado ...% de semillas duras).

o (en los casos en que se haya determinado el porcentaje de viabilidad de la semilla dura): (Ensayo de tetrazolio: ...% de las semillas estaban viables, …% de semillas duras incluidas en el porcentaje de semillas viables).

A discreción del laboratorio de análisis de semillas, se puede dar más información, por ejemplo, el porcentaje de semillas que estaban vacías, con larvas, rotas o deterioradas.

6.8 Procedimientos estándar para el ensayo de tetrazolio

Tabla 6A contiene los procedimientos de la siguiente manera:

Columna 1: Especies Donde se describen métodos para un grupo de especies, sólo aquellas especies enumeradas específicamente en la Tabla 2A Parte 1 se pueden considerar a cubrir.

Columna 2: Pretratamiento Preparación de semillas secas, o premojadura a 20 °C en agua (W), o entre el papel húmedo (BP), o en arena (S). En el caso de dos posibles pretratamientos de la Tabla 6A Parte 1, están separados por un punto y coma.

Columna 3: Preparación antes de la tinción En algunos casos se pueden utilizar dos diferentes métodos de preparación. En algunos casos se puede utilizar el método de baja presión para facilitar la infiltración de los tejidos de las semillas con una solución de tetrazolio (TZ).

Columna 4: Tinción Concentración de la solución de la solución de tetrazolio (porcentaje).

Columna 5: Tiempo óptimo de tinción El tiempo óptimo de tinción en horas está basado en una temperatura de 30 ±2 °C.

Columna 6: Preparación para la evaluación Preparación para la evaluación y el tejido que se observa.

Columna 7: Tejido no viable permitido Normalmente todas las semillas con un embrión completamente teñido y los que tienen partes no teñidas, flácidas y/o necróticas, como se indica en la columna 7, son viables. El área de tejido mencionado es el área máxima de tejido sin teñir, flácido y/o necrótico permitido para evaluar una semilla como viable. Para algunas especies, el endospermo verdadero, el perisperma y/o el tejido del gametofito también deben estar completamente teñidos. Para la evaluación note que toda la estructura de la semilla tiene que ser tenida en cuenta, de modo que si se retira una parte durante la preparación antes de la tinción, se considera como totalmente teñida o como parte de la superficie máxima que puede estar sin teñir.

Columna 8: Observaciones Información adicional.

Capítulo 6 : Ensayo de tetrazolio

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Agropyron spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Agrostis spp.	BP/16; W/2	Agujere cerca del embrión	1	18	Quite el lema para exponer el embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W2	Incisión transversal	1	18	Quite el lema para exponer el embrión	⅓ radícula	–
Allium spp.	W/18	Corte una rebanada delgada en el lado lineal de la semilla y longitudinalmente ⅔ en el endospermo cerca de la mitad de la semilla entre los cotiledones y la radícula	1	18	Corte longitudinalmente desde el lado plano a través del endospermo para exponer embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	–
Alopecurus spp.	BP/18; W/2	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/18; W/2	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
Anthoxanthum spp.	BP/18	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
Arctium spp.	W/18	Corte longitudinalmente a través de la cubierta de la semilla; abra extensamente y extraiga el embrión	1	6	Observe el embrión	Ninguno	–
Arrhenatherum spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Avena spp.	Quite las glumas antes de premojadura BP/18; W/18	Corte las semillas transversalmente cerca del embrión	1	18	Extraiga el embrión y observe su superficie y la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
	Quite las glumas antes de premojadura BP/18; W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie externa del embrión, la superficie cortada, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
Brachiaria spp.	BP/18; W6	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/18; W/6	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	18	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Brassica spp.	W/18	Incida en cruz la cubierta de la semilla en uno de sus cotiledones exteriores, evite de perjudicar el hipocotilo o la radícula. Quita la cubierta de la semilla presionando suavemente	1	3	Observe el embrión	⅓ radícula, medida desde la punta de la radícula, ⅓ necrosis superficial en los cotiledones no en relación con los hipocotilos	–
Bromus spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Chloris gayana	Quite las glumas antes de la premojadura BP/16 a 10 °C; W/3	Corte las semillas transversalmente cerca del embrión	1	6	Observe la superficie del embrión y del escutelo	⅓ radícula, medida desde la punta de la radícula; en total ⅓ de las extremidades del escutelo	Floretes vacíos sin cariópside no son viables

Capítulo 6 : Ensayo de tetrazolio

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Cucumis spp.	W/18	Corte transversalmente una pequeña parte de la semilla en el extremo distal. Corte lateral y longitudinalmente a través de la cubierta de la semilla. Quite la cubierta de la semilla y el pellejo interno fino	1	6	Observe el embrión	⅓ de la radícula, medida desde la punta de la radícula, ½ del extremo distal de los cotiledones	–
Cynosurus spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Dactylis spp.	BP/18; W/2	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
Deschampsia spp.	BP/18; W/2	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
Elymus spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Elytrigia spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Eragrostis spp.	BP* a ≤7 °C/18	Corte las semillas transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	* Temperatura de ≤7°C es necesaria para evitar la germinación

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Festuca spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Helianthus spp.	W/18	Quite el pericarpio y la cubierta de la semilla	1	3	Corte longitudinalmente a través de los cotiledones y el eje de la radícula hipocótilo. Observe ambos lados de la semilla	⅓ radícula medido desde la punta de la radícula, ½ del extremo distal de los cotiledones si superficial, ⅓ del extremo distal de los cotiledones si impregnados	–
Holcus spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Hordeum vulgare	W/4	Extirpe el embrión con su escutelo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la superficie del corte, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
Lactuca spp.	Prepare semilla seca, corte longitudinalmente ¼ a través extremo distal del fruto (Aquenio). W / 18	Exponga el embrión presionando suavemente la cubierta de la semilla	1	3	Observe el embrión	⅓ de la radícula, medida desde la punta de la radícula; ½ del extremo distal de los cotiledones, si es superficial; ⅓ en el extremo distal, si penetrante	–

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Lolium spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Lotus spp.	W/18	Deje las semillas intactas*	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)
Medicago spp.	W/18	Deje las semillas intactas*	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)
Melilotus spp.	W/18	Deje las semillas intactas*	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)
Ocimum spp.	W/18	Corte longitudinalmente a lo largo del lado de la capa del fruto y de la cubierta de la semilla; abra extensamente y extraiga el embrión	1	4	Observe el embrión	⅓ radícula, pequeña necrosis superficial en el extremo distal de los cotiledones	Si se desarrollia limo, remoje las semillas durante 15-20 m en solución 1 % de alunita; seque suavemente con papel de filtro
Onobrychis spp.	W/18	Deje las semillas intactas*	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Ornithopus spp.	W/18	Deje las semillas intactas*	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)
Oryza sativa	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo*	1	2	Observe las superficies del corte	⅔ radícula	* Si es necesario quite el lema
Panicum spp.	BP/18; W/6	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Exponga el embrión y observe la superficie externa	⅓ radicula, ¼ partes distales del escutelo	Floretes vacíos sin cariópside no son viables
	BP/18; W/6	Corte longitudinalmente a través la ½ distal del endospermo	1	18	Exponga el embrión y observe la superficie externa	⅓ radicula, ¼ partes distales del escutelo	Floretes vacíos sin cariópside no son viables
Pascopyrum spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Phalaris spp.	BP/18; W/6	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Exponga el embrión y observe la superficie externa	⅓ radicula, ¼ partes distales del escutelo	–
	BP/18; W/6	Corte longitudinalmente a través la ½ distal del endospermo	1	18	Exponga el embrión y observe la superficie externa	⅓ radicula, ¼ partes distales del escutelo	–
Phleum spp.	BP/16; W/2	Agujere cerca del embrión	1	18	Quite lema para exponer el embrión y observe la superficie externa	⅓ radícula	–
	BP/16; W/2	Incisión transversal	1	18	Quite lema para exponer el embrión y observe la superficie externa	⅓ radícula	–

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Poa spp.	BP/18; W/2	Agujere cerca del embrión	1	18	Quite lema para exponer el embrión y observe la superficie externa	⅓ radícula	–
	BP/18; W/2	Incisión	1	18	Quite lema para exponer el embrión y observe la superficie externa	⅓ radícula	–
Pseudoroegneria spp.	BP/16; W/3	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
	BP/16; W/3	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe la superficie del corte	⅓ radícula	–
Secale cereale	W/4	Extirpe el embrión con su escutelo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo *	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la superficie del corte, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
Setaria spp.	Quite lema y palea antes de la premojadura. W* a 7° C/5	Corte transversalmente cerca del embrión	1	16	Observe la parte externa del embrión, corte longitudinalmente a través del embrión, la superficie cortada	⅓ radícula medida desde la punta de la radícula, ¼ parte distal del escutelo	* Temperatura de 7° C es necesaria para disminuir la germinación durante la premojadura
Solanum (sect. *Lycopersicon*) spp. et hybrides	W/18	Corte entre la radícula y los cotiledones ⅓ en el endospermo	1	18	Corte la semilla en el lado plano en dos mitades; observe las superficies de corte	Ninguno	A veces 42 h de tinción da más clara y más oscura tinción. El tamaño del embrión debe ser algo más que ½ su tamaño normal
Sorghum spp.	W* à 7 °C/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¼ del endospermo *	1	3	Observe la superficie del corte	⅓ radícula medida desde la punta de la radícula	* Temperatura de 7 °C es necesaria para disminuir la germinación durante la premojadura

Tabla 6A Parte 1. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Trifolium spp.	W/18	Deje las semillas intactas *	1	18	Quite la cubierta de la semilla para exponer el embrión	⅓ radícula, ⅓ parte distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Si se ha de determinar la viabilidad de semillas duras, puede ser incidida la cubierta de la semilla en el extremo distal de los cotiledones y mojada (W/4)
Trisetum spp.	BP/18; W/2	Quite las glumas, corte transversalmente cerca del embrión	1	18	Observe la superficie externa del embrión	⅓ radícula	–
×*Triticosecale*	W/4	Extirpe el embrión con su escutelo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la zona cortada, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
Triticum spp.	W/4	Extirpe el embrión con su escutelo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	3	Observe la superficie externa del embrión, la zona cortada, la parte posterior del escutelo*	Área de la raíz, excepto la parte inicial de la raíz, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor
Zea mays	W/18	Corte longitudinalmente a través del embrión y ¾ del endospermo	1	2	Observe las superficies del corte*	Raíz primaria, ⅓ de las extremidades del escutelo	* Tejido sin teñir en el centro del escutelo es indicativo de daño por calor

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Abies spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte en sentido transversal en ambos extremos, para abrir la cavidad del embrión. Trate las semillas de TZ-embebidas con baja presión (opcional)	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión; quite la cubierta de la semilla	Ninguno, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes si embebido durante 48 h
	W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	12	Exponga el embrión; quite la cubierta de la semilla	Ninguno, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes si embebido durante 48 h
Acer campestre	W/18	Corte el pericarpio a lo largo de 3 lados, excepto en el nexo de unión entre los 2 frutos; elimine el pericarpio. Corte un pequeño trozo de cubierta de la semilla y remoje durante 3 h. Quite la cubierta de la semilla	1	18	–	Punta de la radícula	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado BP; S 14 d a 3-5 °C
Acer ginnala	W/18*	Corte ⅙ del fruto a partir del extremo del ala	1	24	Extraiga el embrión a partir del pericarpio y de la cubierta de la semilla	Punta de la radícula, pequeñas necrosis en el extremo distal de los cotiledones	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado * Opcional: S; BP. Preenfriado 10-14 d a 3-5 °C
	W/18*	Quite el pericarpio y corte a través de la cubierta de la semilla a lo largo del borde de los cotiledones	1	18	Parta los cotiledones para exponer el eje del embrión	Punta de la radícula, pequeñas necrosis en el extremo distal de los cotiledones	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado * Opcional: S; BP. Preenfriado 10-14 d a 3-5 °C

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Acer palmatum	W/18*	Corte el pericarpio a lo largo de 3 lados, excepto en el nexo de unión entre los 2 frutos; elimine el pericarpio	1	18	Extraiga el embrión a partir del pericarpio y de la cubierta de la semilla	Punta de la radícula, pequeñas necrosis de los cotiledones si superficiales	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado * Opcional: S; BP. Preenfriado 10-14 d a 3-5 °C
	W/18	Corte el pericarpio a lo largo de 3 lados, excepto en el nexo de unión entre los 2 frutos; elimine el pericarpio. Corte un pequeño trozo de la cubierta de la semilla y remoje durante unas horas. Quita la cubierta de la semilla	1	18	–	Punta de la radícula, pequeñas necrosis de los cotiledones si superficiales	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado
Acer platanoides y *Acer pseudoplatanus*	W/18*	Quite el pericarpio. Corte un pequeño trozo de la cubierta de la semilla y remoje durante unas horas. Quita la cubierta de la semilla	1	18	Observe el embrión	Punta de la radícula, pequeñas necrosis de los cotiledones si superficiales excepto cerca de la radícula/ hipocotilo	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado * Opcional: S; BP. Preenfriado 10-14 d a 3-5 °C
Acer, todas las demás especies	Quite las alas y remoje W/18*	Quite el pericarpio, corte la cubierta de la semilla en la parte opuesta de la radícula; remoje durante 3 horas. Quite la cubierta de la semilla	1	18	Observe el embrión	Punta de la radícula, pequeñas necrosis de los cotiledones si superficiales excepto cerca de la radícula/ hipocotilo	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes con preenfriado * Opcional: S; BP. Preenfriado 10-14 d a 3-5 °C
Amorpha fruticosa	W/24	Corte ⅓ final de la semilla. No quite la cubierta de la porción inferior	1	18	Quite la cubierta de la semilla	(Ninguno)	–
Berberis spp.	W/18	Cortar transversalmente a partir de ⅓ del extremo distal	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	–
		Corte longitudinalmente 2 piezas de endospermo; al menos un corte debe abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	–

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Calocedrus spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte en sentido transversal en ambos extremos, para abrir la cavidad del embrión. Trate las semillas de TZ-embebidas con baja presión (opcional)	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes si embebido durante 48 h
	W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	12	Exponga el embrión; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Semillas viejas y secas pueden dar resultados más consistentes si embebido durante 48 h
Carpinus spp.	W/18*	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión del pericarpio y de la cubierta de la semilla	Ninguno	* Cortar antes del remojo a veces puede evitar daños durante la preparación
Chamaecyparis spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	Prepare las semillas secas o W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	18	Exponga el embrión; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Cornus mas	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente a partir de ⅓ del extremo distal para abrir la cavidad del embrión	1	48*	Extraiga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo en lo que visible	* Baja presión puede ser útil para acortar el tiempo de tinción a 18 h
Cornus spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente a partir del ¼ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión y el endospermo	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Corylus spp.	Rompa las nueces y remoje W/18	Corte 1-2 mm de cotiledones en el extremo distal, los divida longitudinalmente entre ellos (no deben caer en pedazos)	1	18	Esparza los cotiledones separados y corte, especialmente a través de partes no teñidas	Punta de la radícula, necrosis superficiales en el extremo distal de los cotiledones; centro de la cara ventral de los cotiledones, si no superior a ⅓ del diámetro	(Corazones huecos) pueden desaparecer si las nueces se humedecen BP 7 días a 20 °C antes del agrietamiento
Cotoneaster spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión	Punta de la radícula, ⅓ de la zona distal de los cotiledones, ½ si superficiales	_

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Crataegus spp.	Prepare las semillas secas o W/18*	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión	Punta de la radícula, ⅓ de la zona distal de los cotiledones, ½ si superficiales	* Cortar antes del remojo a veces puede evitar daños durante la preparación
Elaeagnus spp.	W/18	Corte transversalmente ⅓ desde el extremo distal, opuesto a la base del tallo, para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Punta de la radícula, ⅓ de la zona distal de los cotiledones, ½ si superficiales	_
	W/18	Corte longitudinalmente junto del embrión, exponga el embrión, remoje durante 1 h en agua, elimine la cubierta de la semilla	1	18	Observe el embrión	Punta de la radícula, ⅓ de la zona distal de los cotiledones, ½ si superficiales	_
Euonymus spp.	W/18	Corte transversalmente a partir de ⅓ del extremo distal	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	W/18	Corte longitudinalmente 2 piezas de endospermo; al menos un corte debe abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Fagus spp.	Quite el pericarpio de las semillas secas* y W/18	Quite la cubierta de la semilla	1	18	Abra los cotiledones	Punta de la radícula, ⅓ de la zona distal de los cotiledones, si superficiales	* El pericarpio de las semillas muy secas es más fácil de eliminar después de la mojadura durante un par de horas
Fraxinus spp.	Quite el pericarpio de las semillas secas* y remoje W/18	Corte un pedazo pequeño longitudinalmente en ambos lados, para abrir la cavidad del embrión	1	18*	Exponga el embrión mediante el fraccionamiento del endospermo en dos mitades	Ninguno, excepto pequeñas necrosis en el endospermo lejos del embrión	* Semillas recién cosechadas sólo necesitan 8 h
Ginkgo biloba	Rompa las semillas secas	Corte longitudinalmente a través del centro del endospermo para abrir la cavidad del embrión	1	18	Abra el endospermo, exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	_

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Ilex spp.	W/18	Corte transversalmente ⅓ del extremo distal y corte longitudinalmente hacia el embrión	1	18	Exponga el embrión y el endospermo	Ninguno, incluyendo el endospermo	Utilice binoculares siendo que el embrión es muy pequeño
	W/18	Corte longitudinalmente a través de la cubierta de la semilla y en el endospermo	1	18	Exponga el embrión y el endospermo	Ninguno, incluyendo el endospermo	Utilice binoculares siendo que el embrión es muy pequeño
Juniperus spp.	Prepare las semillas secas o W/18*	Corte transversalmente ⅓ del extremo distal para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión, quite la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	* Si necesario quite las semillas de las estructuras circundantes
	W/18*	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	18	Exponga los embriones; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	* Si necesario quite las semillas de las estructuras circundantes
Koelreuteria spp.	Corte las semillas secas en la base del tallo y remoje W/18	Quite el pericarpio, además remoje durante aproximadamente 3 h. Quite la cubierta de la semilla	1	18	_	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones; ½ si superficial	_
Ligustrum spp.	W/18	Corte transversalmente ¼ del extremo distal	1	18	Corte longitudinalmente a través del embrión y del endospermo	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	W/18	Corte longitudinalmente una pieza de endospermo en ambos lados	1	18	Exponga los embriones; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Liriodendron spp.	W/18	Corte en sentido transversal opuesto a las alas y un trozo de pericarpio y de endospermo	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	W/18	Corte longitudinalmente en el endospermo	1	18	Exponga los embriones; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Malus spp.	W/18	Quite la cubierta de la semilla	1	18	Observe el embrión	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones; ½ si superficial	_

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Malva spp.	W/18	Corte transversalmente una rebanada delgada a partir del reverso de la semilla	1	18	Quite la cubierta de la semilla	Ninguno	El embrión puede llegar a ser frágil si la tumefacción ocurre rápidamente
Pinus especies de cáscara dura*	Rompa las semillas secas o W/18	Corte transversalmente ⅓ del extremo distal para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión, quite la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Embriones más cortos que ⅓ de la cavidad de los embriones no son viables * Por ejemplo *Pinus cembra, Pinus coulteri, Pinus koraiensis*
Pinus especies de pellejo fino*	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente ⅓ del extremo distal para abrir la cavidad del embrión	1	18	Extraiga el embrión y el endospermo de la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Embriones más cortos que ⅓ de la cavidad de los embriones no son viables * Por ejemplo *Pinus nigra, Pinus mugo*
	Prepare las semillas secas o W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	18	Extraiga el embrión y el endospermo de la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo, excepto pequeñas necrosis superficiales en la parte externa del endospermo, no en relación con la cavidad del embrión	Embriones más cortos que ⅓ de la cavidad de los embriones no son viables
Prunus spp.*	Rompa las semillas y remoje W/18, cambie el agua si es necesario (por ejemplo si huele a almendras amargas)	Quite la cubierta de la semilla**	1	18	Separe los cotiledones	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones si superficial	* Especies de semillas grandes necesitan un mayor tiempo de tinción (24 h) ** Abra los cotiledones con cuidado en *Prunus persica, Prunus domestica*
Pseudotsuga spp.	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente ⅓ del extremo distal del endospermo para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión, quite la cubierta de la semilla	Ninguno, salvo pequeñas necrosis superficiales en el endospermo en el extremo distal	_
	Prepare las semillas secas o W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	12	Exponga el embrión; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, salvo pequeñas necrosis superficiales en el endospermo en el extremo distal	_

Tabla 6A Parte 2. Procedimientos estándar para la prueba de tetrazolio: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especies	Pretratamiento: Tipo / tiempo mínimo (h)	Preparación antes de la tinción	Solución colorante (%)	Tiempo óptimo de tinción (h)	Preparación para la evaluación	Permitido tejido no viable	Observaciones
1	2	3	4	5	6	7	8
Pyrus spp.	W/18	Quite la cubierta de la semilla	1	18	Observe el embrión	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones; ½ si superficial	_
Rosa spp.	Prepare las semillas secas o W/18*	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones, ½ si superficial	* Cortar antes del remojo puede evitar problemas de preparación
Styphnolobium spp.	Prepare las semillas secas o W/24	Corte transversalmente una rebanada delgada desde el extremo distal	1	18	Elimine la cubierta de la semilla	Punta de la radícula, ½ zona distal de los cotiledones	_
Sorbus spp.	W/18	Corte transversalmente a partir del ⅓ del extremo distal	1	18	Extraiga el embrión	Punta de la radícula, ⅓ zona distal de los cotiledones; ½ si superficial	_
Taxodium distichum	Prepare las semillas secas o W/18	Corte transversalmente ¼ en ambos extremos para abrir la cavidad del embrión	1	18	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión, quite la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	Prepare las semillas secas o W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	18	Exponga los embriones; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Taxus spp.	W/18	Corte transversalmente ¼ del extremo distal (incluyendo una pieza del endospermo)	1	24	Corte longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
	W/18	Corte longitudinalmente al lado del embrión	1	24	Exponga los embriones; elimine la cubierta de la semilla	Ninguno, incluyendo el endospermo	_
Tilia spp.	Quite el pericarpio, corte la base del tallo y remoje W/18	Quite la cubierta de la semilla	1	18	Abra el endospermo con una pequeña incisión y exponga el embrión	Ninguno, salvo pequeñas necrosis en el endospermo en el extremo distal, si superficiales	_
Viburnum spp.	W/18	Corte la cubierta de la semilla a lo largo de 3 lados (lados distales y largos); elimine la cubierta de la semilla	1	18	Corte plano longitudinalmente a través del endospermo y exponga el embrión, comienze en la región del embrión	Ninguno, salvo pequeñas necrosis en el endospermo, opuesto al embrión, si superficiales	_

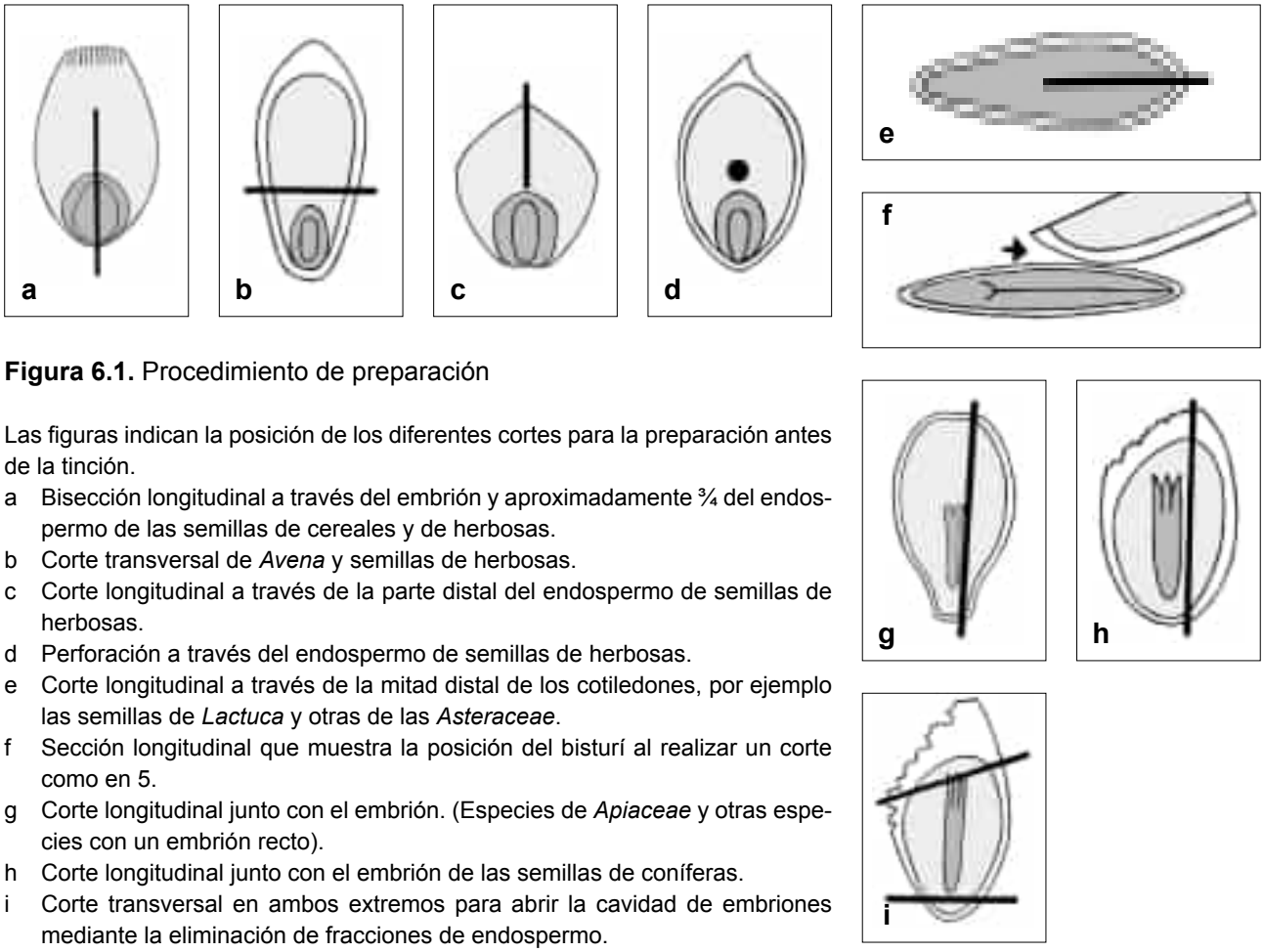
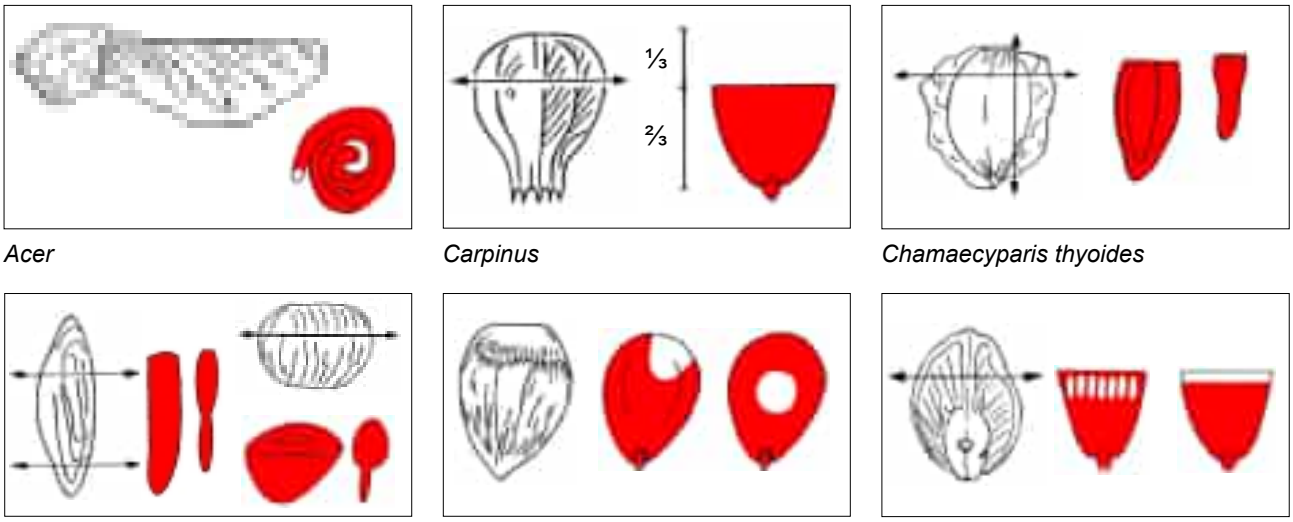


Figura 6.1. Procedimiento de preparación

Las figuras indican la posición de los diferentes cortes para la preparación antes de la tinción.

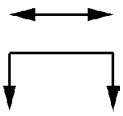
a Bisección longitudinal a través del embrión y aproximadamente ¾ del endospermo de las semillas de cereales y de herbosas.
b Corte transversal de *Avena* y semillas de herbosas.
c Corte longitudinal a través de la parte distal del endospermo de semillas de herbosas.
d Perforación a través del endospermo de semillas de herbosas.
e Corte longitudinal a través de la mitad distal de los cotiledones, por ejemplo las semillas de *Lactuca* y otras de las *Asteraceae*.
f Sección longitudinal que muestra la posición del bisturí al realizar un corte como en 5.
g Corte longitudinal junto con el embrión. (Especies de *Apiaceae* y otras especies con un embrión recto).
h Corte longitudinal junto con el embrión de las semillas de coníferas.
i Corte transversal en ambos extremos para abrir la cavidad de embriones mediante la eliminación de fracciones de endospermo.



Acer *Carpinus* *Chamaecyparis thyoides*

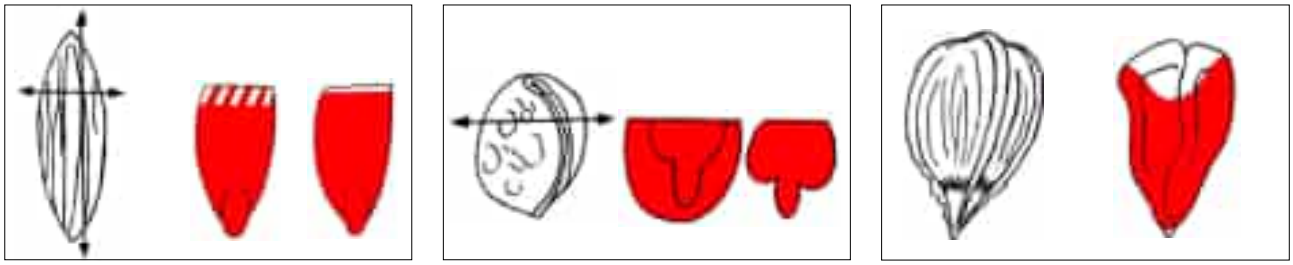
Cornus *Corylus* *Cotoneaster, Crataegus, Rosa* y *Sorbus*

Figura 6.2. Preparación y procedimiento de evaluación de semillas de árboles y arbustos.
Todos los ejemplos que se muestran son de semillas viables. (Continúa en la página siguiente)

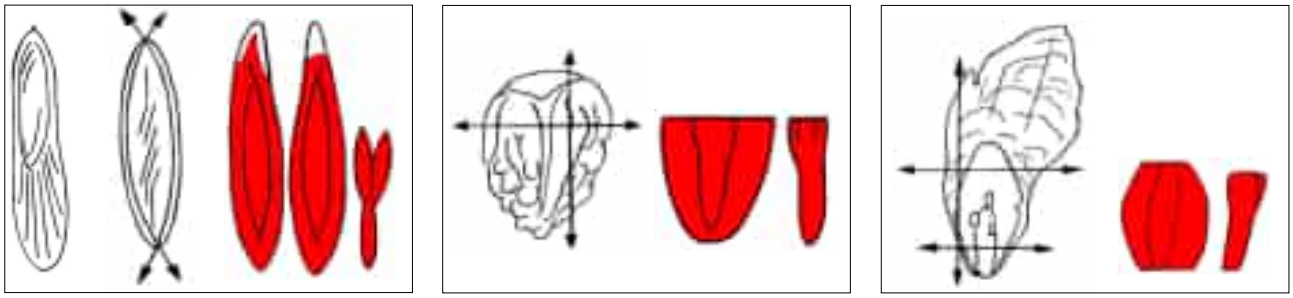


Posición de un corte que va todo a través del tejido

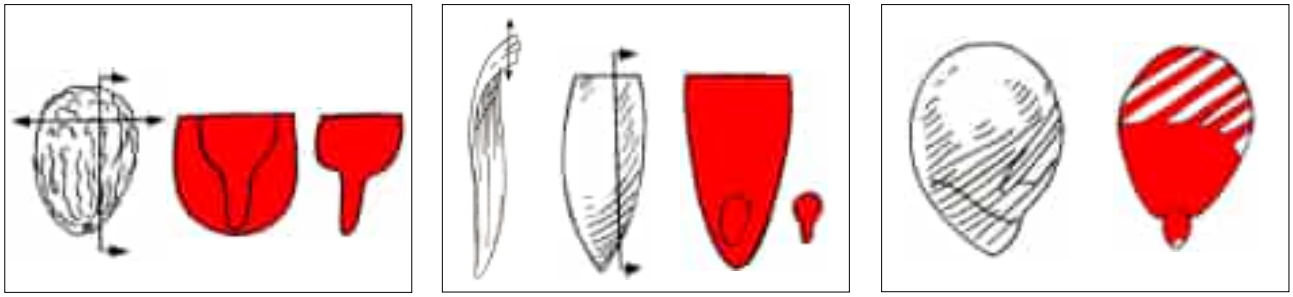
Posición de un corte que entra en el endospermo



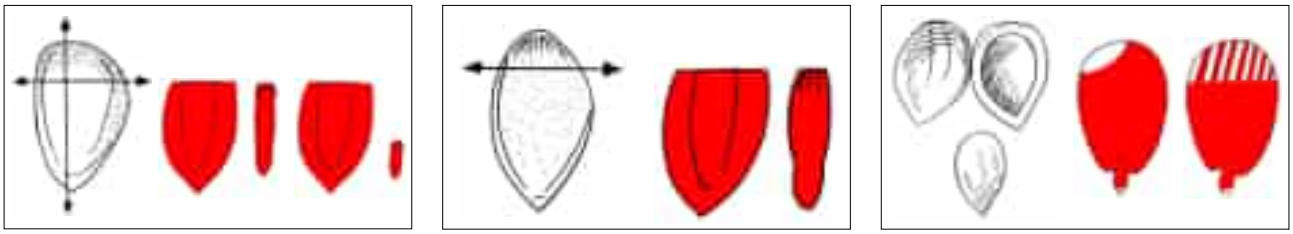
Elaeagnus *Euonymus* *Fagus*



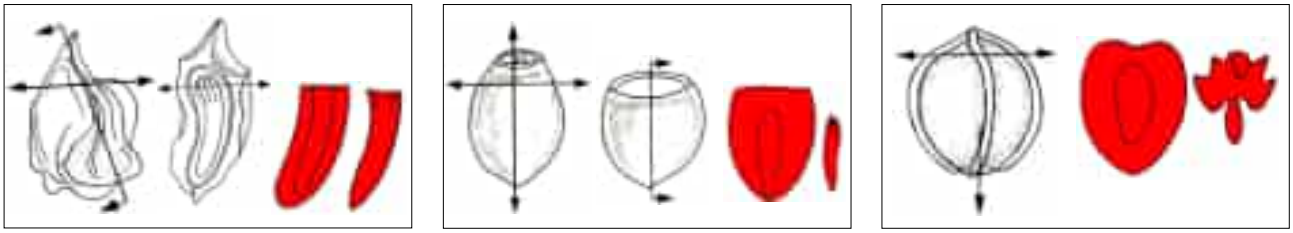
Fraxinus *Juniperus* *Libocedrus*



Ligustrum *Liriodendron tulipifera* *Malus* y *Pyrus*

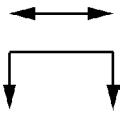


Pinus (Cáscara dura) *Pinus* (Cáscara fina) *Prunus*



Taxodium distichum *Taxus* *Tilia*

Figura 6.2. (Cont.) Preparación y procedimiento de evaluación de semillas de árboles y arbustos. Todos los ejemplos que se muestran son de semillas viables.



Posición de un corte que va todo a través del tejido

Posición de un corte que entra en el endospermo

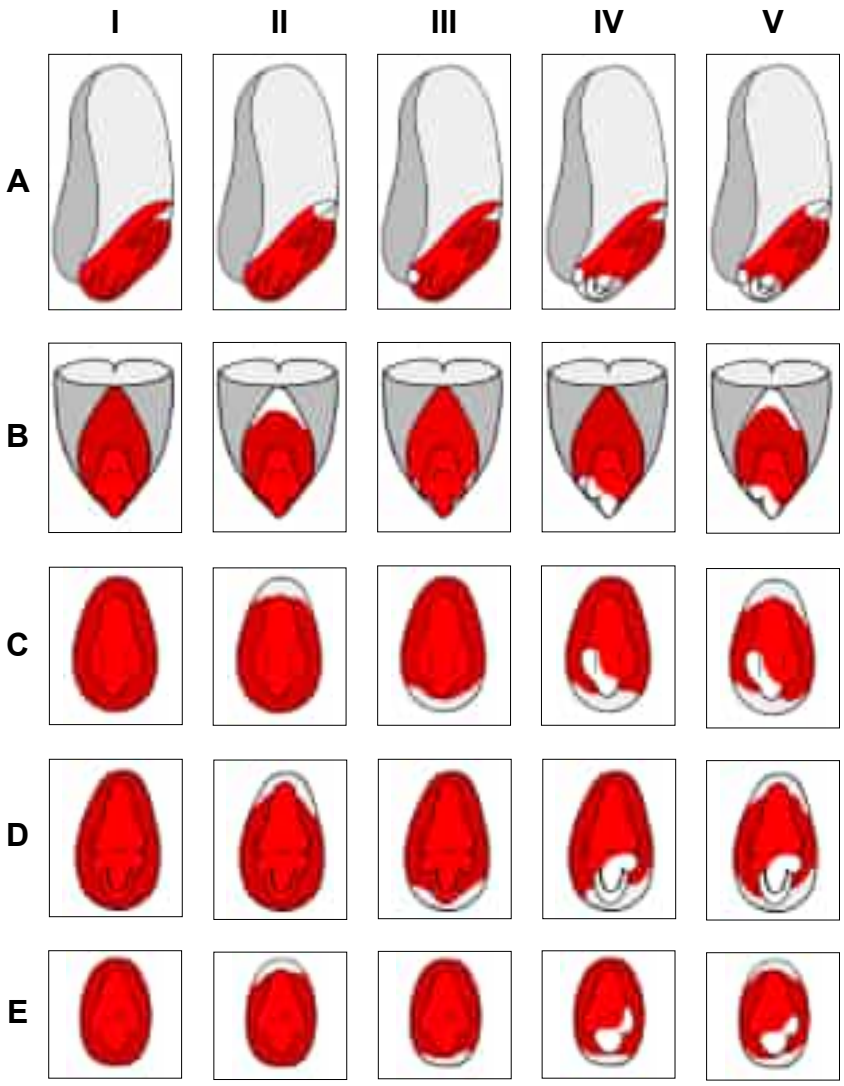


Figura 6.3a. Guía para la evaluación de los cereales: semillas viables

Las figuras de la columna I están completamente teñidas y viables. Columnas II-V muestran la máxima superficie de tejido sin teñir, flácido o necrótico permitido en las semillas viables.

A Las figuras son representativas de *Triticum, ×Triticosecale, Secale, Hordeum* y *Avena* cuando preparadas mediante bisección o divididas en dos partes para su evaluación
B *Avena* preparada mediante el corte transversal
C *Hordeum* preparada para el método del embrión escindido
D *Secale* preparada para el método del embrión escindido
E *Triticum* y *×Triticosecale* preparadas para el método del embrión escindido

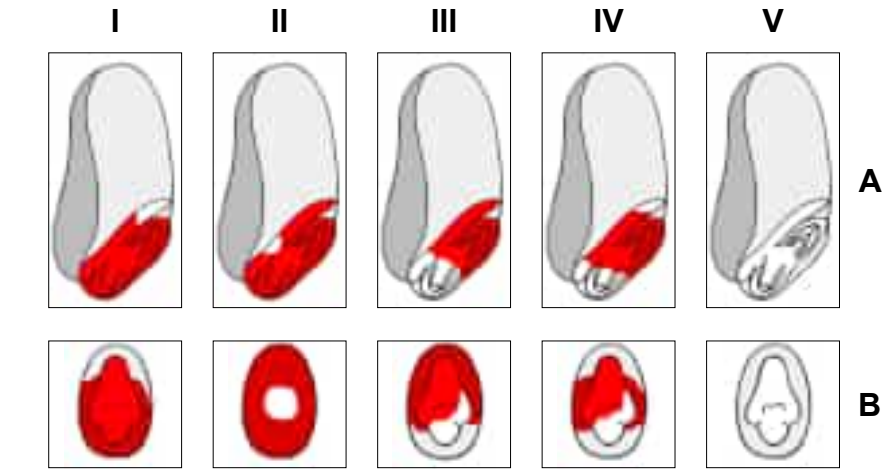


Figura 6.3b. Guía para la evaluación de los cereales: semillas no viables.

A Figuras representativas de *Triticum, ×Triticosecale, Secale, Hordeum* y *Avena* cuando preparadas mediante bisección o divididas en dos partes para su evaluación.
B *Triticum* preparada para el método del embrión escindido.
B II escutelo de *Triticum* visto desde la parte posterior.

6.9 Tablas de tolerancias

La **Tabla 6B** indica el rango máximo (es decir, diferencia entre máximo y mínimo) en el porcentaje de semillas viables tolerables entre las réplicas, lo que permite la variación aleatoria del muestreo sólo a 0.025 de probabilidad. Para encontrar la gama máxima tolerada en cualquier caso, calcular el porcentaje promedio, al número entero más próximo, de las cuatro réplicas: si es necesario, forme réplicas de 100 semillas mediante la combinación de las subréplicas de 50 o 25 semillas que estaban más próximas entre sí en la incubadora. Busque el promedio en la columna 1 o 2 de la tabla y lea el máximo rango tolerado en la columna opuesta 3.

Las tolerancias se basan en la Tabla G1, columna D, en Miles (1963).

En la **Tabla 6C**, las tolerancias tienen en cuenta el error experimental en un laboratorio, como se describe en el informe del Comité TEZ 1998-2001 y no se extrae de Miles (1963).

En la **Tabla 6D**, las tolerancias tienen en cuenta el error experimental entre los laboratorios, como se describe en el Informe del Comité TEZ 1998-2001 y no se extraen de Miles (1963).

Miles, S.R. (1963). Handbook of Tolerances and of Measures of Precision for Seed Testing. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, **28** (3), 644.

Tabla 6B. Rango máximo tolerado entre cuatro réplicas de 100 semillas en un ensayo de tetrazolio (*two-way test* a nivel de significación del 2,5 %)

Promedio viabilidad (%)		Rango máximo
1	2	3
99	2	5
98	3	6
97	4	7
96	5	8
95	6	9
93–94	7–8	10
91–92	9–10	11
89–90	11–12	12
87–88	13–14	13
84–86	15–17	14
81–83	18–20	15
78–80	21–23	16
73–77	24–28	17
67–72	29–34	18
56–66	35–45	19
51–55	46–50	20

Tabla 6C. Tolerancias para los ensayos de viabilidad de tetrazolio sobre la misma o una diferente muestra remitida cuando los ensayos se realizan en el mismo laboratorio cada uno de 400 semillas (*two-way test* a nivel de significación del 2,5 %)

Promedio viabilidad (%)		Rango máximo
1	2	3
98–99	2–3	2
96–97	4–5	3
93–95	6–8	4
89–92	9–12	5
83–88	13–18	6
75–82	19–26	7
58–74	27–43	8
51–57	44–50	9

Tabla 6D. Tolerancias para los ensayos de viabilidad de tetrazolio en dos diferentes muestras remitidas en diferentes laboratorios cada uno de 400 semillas (*one-way test* a nivel de significación del 5 %)

Promedio viabilidad (%)		Rango máximo
1	2	3
99	2	4
98	3	5
97	4	6
95–96	5–6	7
93–94	7–8	8
91–92	9–10	9
89–90	11–12	10
86–88	13–15	11
82–85	16–19	12
78–81	20–23	13
73–77	24–28	14
65–72	29–36	15
51–64	37–50	16

Capítulo 7: Ensayo de salud de la semilla

7.1 Objeto

El objetivo de un ensayo de salud de las semillas es determinar el estado de salud de una muestra de semillas y, por inferencia, la del lote de semillas.

El ensayo de salud de la semilla es importante por cuatro razones:

a) El inóculo transmitido por las semillas puede dar lugar al desarrollo de enfermedad progresiva en el campo y reducir el valor comercial de la cosecha.
b) Los lotes de semillas importados pueden introducir enfermedades en nuevas regiones. Por lo tanto pueden ser necesarios nuevos ensayos para determinar la necesidad de cuarentena.
c) El ensayo de salud de la semilla puede dilucidar la evaluación de las plántulas y las causas de la mala germinación o aparecimiento en el campo y así complementar los ensayos de germinación.
d) El resultado de los ensayos de salud de la semilla puede indicar la necesidad de llevar a cabo/realizar el tratamiento (s) del lote de semillas con el fin de erradicar los agentes patógenos transmitidos por la semilla o para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades.

7.2 Definiciones

7.2.1 Salud de las semillas

La salud de las semillas se refiere principalmente a la presencia o ausencia de organismos causantes enfermedades, tales como hongos, bacterias y virus y las pestes animales, incluyendo los nematodos e insectos, pero pueden estar implicadas condiciones fisiológicas tales como la deficiencia de oligoelementos.

7.2.2 Pretratamiento

Cualquier tratamiento físico o químico de laboratorio anterior de la incubación de la muestra de trabajo, dado únicamente para facilitar el ensayo.

7.2.3 Tratamiento de las semillas

Véase 2.2.11. Para el ensayo de sanidad de las semillas, puede ser tratado un lote de semillas con el fin de controlar los patógenos de las plantas y las plagas de insectos, o la corrección de las deficiencias de oligoelementos.

7.2.4 Programa de validación ISTA del método de la Salud de las Semillas

Antes de la publicación de las *International Rules for Seed Testing*, se validan los métodos ISTA de ensayos de la salud de las semillas (nuevos o equivalentes). Los principios y factores que deben ser considerados en la validación de métodos para la detección de patógenos transmitidos por la semilla se describen en el *ISTA Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-borne Pathogens*.

7.3 Principios generales

El ensayo de sanidad de la semilla debe ser realizada utilizando métodos y equipos que han sido probados para garantizar que son aptos para el propósito. Diferentes métodos de prueba están disponibles, que varían en sensibilidad y reproducibilidad y en la cantidad de entrenamiento y equipo necesario. El método usado dependerá del patógeno o de la afección a ser investigada, la especie de la semilla y el propósito del ensayo. La selección del método y la evaluación de los resultados requieren el conocimiento y la experiencia de los métodos disponibles. La presencia o ausencia de organismos de enfermedad, plagas y condiciones fisiológicas nocivas, especificados por el remitente, se estiman con la mayor precisión permitida por el método utilizado.

7.4 Procedimientos

7.4.1 Muestra de trabajo

Dependiendo del método de ensayo se puede usar como una muestra de trabajo la muestra remitida, toda o una parte de ella.

La muestra debe ser empaquetada y remitida de una manera que no altere su estado de salud de la semilla.

Excepcionalmente puede ser necesaria una muestra remitida mayor a la especificada en 2.8 y, en tales casos, debe ser instruida la toma de muestras en consecuencia.

Cuando se requiere una porción de la muestra remitida como muestra de trabajo, la reducción debe llevarse a cabo de acuerdo con 2.5.2, tomando las precauciones adecuadas para evitar la contaminación cruzada.

Normalmente la muestra de trabajo no debe ser inferior a la especificada en la descripción del método.

Réplicas que contienen un número determinado de semillas, si es necesario, deben ser tomadas al azar de una submuestra después de haber mezclado bien.

7.4.2 Tratamiento de semillas

Los resultados del ensayo pueden verse influidos por el tratamiento aplicado al lote de semillas. Los ensayos de sanidad de la semilla en semillas tratadas, generalmente entregan resultados de los ensayos no fiables causados por el enmascaramiento o la inhibición del crecimiento del organismo objetivo. Hojas de métodos individuales determinarán si el ensayo de las semillas tratadas es aceptable.

7.4.3 Muestra para almacenamiento

La microflora de las semillas, en el lote o en la muestra, puede cambiar considerablemente durante un almacenamiento en condiciones en las que se mantiene la viabilidad de las semillas de manera satisfactoria. La selección de las condiciones apropiadas de almacenamiento debe tener en cuenta la temperatura óptima de almacenamiento y el recipiente con el fin de mantener la integridad de la muestra.

El desarrollo abundante de moldes saprófitos incluyendo (hongos de almacenamiento) en las pruebas, puede ser una indicación de que la semilla no es de buena calidad debido a las condiciones de cosecha, procesamiento o almacenamiento desfavorables, o al envejecimiento. Algunos hongos (tales como *Rhizopus* spp.) se extienden rápidamente durante los ensayos en papel secante y se pueden pudrir plántulas inicialmente sanas o pueden interferir con la excrecencia del patógeno de las semillas infectadas plateadas. Puede ser aconsejable el tratamiento previo como se describe en el método específico.

7.4.4 Instrucciones específicas

Métodos de ensayo de salud específicos de la semilla se publican en línea en el sitio web del ISTA en:

www.seedtest.org/seedhealthmethods

Los métodos de salud de semillas se basan normalmente en un huésped y un patógeno, pero pueden ser incluidos los métodos de patógenos múltiples. Antes de la publicación, todos los métodos de ensayo de la salud de semillas deberán ser validados a través del Programa ISTA de Validación del Método de la Salud de la Semilla (*ISTA Seed Health Method Validation Programme)*. Se enumeran en la tabla 7A los métodos validados de esta manera en el momento de la impresión. Se pueden encontrar en el sitio web de la ISTA (*www.seedtest.org/seedhealthmethods*) las adiciones, actualizaciones y eliminaciones a esta lista. La lista definitiva se lleva a cabo por la Secretaría ISTA. Es responsabilidad del laboratorio que usa el método de consultar esta lista.

7.5 Cálculo y expresión de los resultados

Los resultados se expresan ya sea cualitativa o cuantitativamente como se especifica en los métodos individuales prescritos.

7.6 Indicación de los resultados

Los resultados de un ensayo para la salud de las semillas deben ser notificadas bajo “Otras determinaciones” *(Other determinations)* de la siguiente manera:

- sea los resultados cualitativos que los cuantitativos, como se especifica en los métodos individuales;
- resultados negativos y positivos, como se especifica en los métodos individuales;
- el nombre científico del patógeno detectado;
- el porcentaje de semillas infectadas;
- el método utilizado, incluyendo cualquier tratamiento previo (7.2.2);
- el tamaño de la muestra o fracción examinada;
- cualquier procedimiento adicional permitido utilizado.

La ausencia de una declaración sobre el estado de salud de la semilla no implica necesariamente que el estado de salud es satisfactorio.

Table 7A. ISTA official seed health testing methods

7-001a: Detection of *Alternaria dauci* in *Daucus carota* (Carrot) seed by blotter method
Host: *Daucus carota* L.
Pathogen(s): *Alternaria dauci* (J.G.Kühn) J.J.Groves & Skolko, syn. *A. porri* f.sp. *dauci* (J.G.Kühn) Neerg., syn. *A. carotae* (Ellis & Langlois) Stevenson & Wellman
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-001b: Detection of *Alternaria dauci* in *Daucus carota* (Carrot) seed by malt agar method
Host: *Daucus carota* L.
Pathogen(s): *Alternaria dauci* (J.G.Kühn) J.J.Groves & Skolko, syn. *A. porri* f.sp. *dauci* (J.G.Kühn) Neerg., syn. *A. carotae* (Ellis & Langlois) Stevenson & Wellman
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-002a: Detection of *Alternaria radicina* in *Daucus carota* (Carrot) seed by blotter method
Host: *Daucus carota* L.
Pathogen(s): *Alternaria radicina* Meier, Drechsler & E.D.Eddy, syn. *Stemphylium radicinum* (Meier, Drechsler & E.D.Eddy) Neergaard
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-002b: Detection of *Alternaria radicina* in *Daucus carota* (Carrot) seed by malt agar method
Host: *Daucus carota* L.
Pathogen(s): *Alternaria radicina* Meier, Drechsler & E.D.Eddy, syn. *Stemphylium radicinum* (Meier, Drechsler & E.D.Eddy) Neergaard
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-003: Detection of *Botrytis cinerea* in *Helianthus annuus* (Sunflower) seed
Host: *Helianthus annuus* L.
Pathogen(s): *Botrytis cinerea* Pers. ex Pers. (Perfect state *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, syn. *Sclerotinia fuckeliana* (de Bary) Fuckel.)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-004: Detection of *Phoma lingam* in *Brassica* spp. seed
Host: *Brassicaceae*
Pathogen(s): *Phoma lingam* (Tode ex Fr.) Desm., syn. *Plenodomus lingam* (Tode ex Fr.) Hohn (Perfect state *Leptosphaeria maculans* (Tode ex Fr.) Ces. & de Not.). Imperfect state *Phoma lingam*
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-005: Detection of *Ascochyta pisi* in *Pisum sativum* (Pea) seed
Host: *Pisum sativum* L.s.l.
Pathogen(s): *Ascochyta pisi* Lib.
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-006: Detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus vulgaris* (Bean) seed
Host: *Phaseolus vulgaris* L.
Pathogen(s): *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav.
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-007: Detection of *Alternaria linicola*, *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum lini* in *Linum usitatissimum* (Flax) seed
Host: *Linum usitatissimum* L.
Pathogen(s): *Alternaria linicola* J.W.Groves & Skolko; *Botrytis cinerea* Pers. ex Pers. (Perfect state *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, syn. *Sclerotinia fuckeliana* (de Bary) Fuckel.); *Colletotrichum lini* (Westerd.) Tochinai, syn. *C. linicola* Pethybr. & Laff.
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-008: Detection of *Caloscypha fulgens* in *Picea engelmannii* and *P. glauca* (Spruce) seed
Host: *Picea engelmannii* Parry ex Engelm.; *Picea glauca* (Moench) Voss
Pathogen(s): *Caloscypha fulgens* (Pers.) Boud. (Imperfect state *Geniculodendron pyriforme* Salt)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-009: Detection of *Gibberella circinata* on *Pinus* spp. (Pine) and *Pseudotsuga menziesii* (Douglas-fir) seed
Host: *Pinus* spp.*; Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco*
Pathogen(s): *Gibberella circinata* Nirenberg & O)Donnell (Imperfect state *Fusarium circinatum* Nirenberg & O)-Donnell, syn. *F. subglutinans* f. sp. *pini* Hepting, syn. *F. lateritium* f. sp. *pini* Hepting)
Date approved: 2011
Review due: 2016

Table 7A. ISTA official seed health testing methods (cont.)

7-010: Detection of *Drechslera oryzae* in *Oryza sativa* (Rice) seed
Host: *Oryza sativa* L.
Pathogen(s): *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram. & Jain, syn. *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem., syn. *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan (Perfect state *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, syn. *Ophiobolus miyabeanus* Ito & Kuribayashi)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-011: Detection of *Pyricularia oryzae* in *Oryza sativa* (Rice) seed
Host: *Oryza sativa* L.
Pathogen(s): *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr (Imperfect state *Pyricularia oryzae* Cavara, syn. *P. grisea*)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-012: Detection of *Alternaria padwickii* in *Oryza sativa* (Rice) seed
Host: *Oryza sativa* L.
Pathogen(s): *Alternaria padwickii* (Ganguly) M.B.Ellis, syn. *Trichoconis padwickii* Ganguly, syn. *Trichoconiella padwickii* (Ganguly) Jain
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-013a: Detection of *Ustilago nuda* in *Hordeum vulgare* (Barley) seed by embryo extraction
Host: *Hordeum vulgare* L.
Pathogen(s): *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr.
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-013b: Detection of *Ustilago nuda* in *Hordeum vulgare* (Barley) seed by dehulling and embryo extraction
Host: *Hordeum vulgare* L.
Pathogen(s): *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr.
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-014: Detection of *Stagonospora nodorum* in *Triticum aestivum* (Wheat) seed
Host: *Triticum aestivum* L.
Pathogen(s): *Stagonospora nodorum* Berk., syn. *Septoria nodorum* Berk. (Perfect state *Leptosphaeria nodorum* Mailer)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-015: Detection of *Neotyphodium* spp. in *Festuca* spp. (Fescue) and *Lolium* spp. (Ryegrass) seed
Host: *Festuca* spp., *Lolium* spp.
Pathogen(s): *Neotyphodium coenophialum* (Morgan-Jones & W.Gams) Glenn, C.W.Bacon & Hanlin; *Neotyphodium lolii* (Latch, M.J.Chr. & Samuels) Glenn, C.W.Bacon & Hanlin
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-016: Detection of *Phomopsis* complex in *Glycine max* (Soybean, Soya bean) seed
Host: *Glycine max* (L.) Merr.
Pathogen(s): *Phomopsis longicolla* Hobbs, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Lehm.) Wehm. (Imperfect state *P. phaseoli* (Desm.) Sacc., syn. *P. sojae* Lehmann); *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell.) Sacc. f. sp. *caulivora* (DPC), syn. *D. phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwell
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-017: (Replaced by 7-007)

7-018: (Replaced by 7-007)

7-019a: Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on *Brassica* spp. seed
Host: *Brassica* spp.
Pathogen(s): *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson
Date approved: 2014
Review due: 2019

7-019b: Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in disinfested/disinfected *Brassica* spp. seed
Host: *Brassica* spp.
Pathogen(s): *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-020: Detection of *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* in *Daucus carota* (Carrot) seed
Host: *Daucus carota* L.
Pathogen(s): *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* (Kendrick) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings, syn. *X. campestris* pv. *carotae* (Kend) Dye
Date approved: 2010
Review due: 2015

Table 7A. ISTA official seed health testing methods (cont.)

7-021: Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* in *Phaseolus vulgaris* (Bean) seed
Host: *Phaseolus vulgaris* L.
Pathogen(s): *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings, syn. *X. campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* Vauterin, Hoste, Kersters & Swings, syn. *X. campestris pv. phaseoli var. fuscans* (Burkholder) Starr & Burkholder
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-022: Detection of *Microdochium nivale* and *M. majus* in *Triticum* spp. (Wheat) seed
Host: *Triticum* spp.
Pathogen(s): *Microdochium nivale* Samuels & Hallett, syn. *Fusarium nivale* (Fr.) Rabenh. (Perfect state *Monographella nivalis* (Schaff.) Müller); *M. majus* (Wollenw.) Glynn & S.G.Edwards, syn. *M. nivale* var. *majus* (Wollenw.) Samuels & I.C.Hallett
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-023: Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* in *Phaseolus vulgaris* (Bean) seed
Host: *Phaseolus vulgaris* L.
Pathogen(s): *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Gardan, Bollet, Abu, Ghorrah, Grimont & Grimont, syn. *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Young, Dye & Wilkie
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-024: Detection of *Pea early browning virus* and *Pea seed-borne mosaic virus* in *Pisum sativum* (Pea) seed
Host: *Pisum sativum* L.s.l.
Pathogen(s): *Pea early browning virus* (PEBV) and *Pea seed-borne mosaic virus* (PSbMV)
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-025: Detection of *Aphelenchoides besseyi* in *Oryza sativa* (Rice) seed
Host: *Oryza sativa* L.
Pathogen(s): *Aphelenchoides besseyi* Christie
Date approved: 2013
Review due: 2018

7-026: Detection of *Squash mosaic virus*, *Cucumber green mottle mosaic virus* and *Melon necrotic spot virus* in cucurbit seed
Host: Cucurbits
Pathogen(s): *Squash mosaic virus* (SqMV); *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV); *Melon necrotic spot virus* (MNSV)
Date approved: 2014
Review due: 2019

7-027: Detection of *Pyrenophora teres* and *P. graminea* on *Hordeum vulgare* (Barley) seed
Host: *Hordeum vulgare* L.
Pathogen(s): *Pyrenophora teres* Drechsler (Imperfect state *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.); *Pyrenophora. graminea* Ito & Kurib. (Imperfect state *D. graminea* (Rabenh. Ex Schlecht.) Shoem.)
Date approved: 2011
Review due: 2016

7-028: Detection of infectious *Tobacco mosaic virus* and *Tomato mosaic virus* in *Solanum lycopersicum* (Tomato) seed by the local lesion assay (indexing) on *Nicotiana tabacum* plants
Host: *Solanum lycopersicum* L.
Pathogen(s): *Tobacco mosaic virus* (TMV); *Tomato mosaic virus* (ToMV)
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-029: Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in *Pisum sativum* (Pea) seed
Host: *Pisum sativum* L.s.l.
Pathogen(s): *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sack.) Young, Dye & Wilkie
Date approved: 2012
Review due: 2017

7-030: Detection of *Acidovorax valerianellae* in *Valerianella locusta* (corn salad) seed
Host: *Valerianella locusta* (L.) Laterr.
Pathogen(s): *Acidovorax valerianellae* sp. nov.
Date approved: 2014
Review due: 2019

Capítulo 9: Determinación del contenido de humedad

9.0 Método de referencia básico para la determinación del contenido de humedad

El método de referencia básico para la introducción en las Reglas de una nueva especie o de nuevos métodos, es el método del horno con baja temperatura constante, es decir, 17 horas a 103 °C. Para validar la determinación de la humedad de una nueva especie debe ser completada un ensayo comparativo que se puede hacer de forma precisa y reproducible entre laboratorios utilizando 17 horas a 103 °C.

9.0.1 Necesidad del análisis de moler

La necesidad de moler depende de factores tales como el tamaño de la semilla y la permeabilidad al agua de la cubierta de la semilla. Sin embargo, los ensayos para el efecto de la molienda no son necesarias si el tamaño de la semilla es demasiado pequeño para cumplir con los requisitos para la molienda fina. Antes de introducir en el presente reglamento una nueva especie, es obligatorio probar el efecto de la molienda.

Características de la semilla, tales como alta humedad o una cubierta de la semilla extremadamente dura, pueden impedir la molienda. En estas circunstancias, está permitido romper o cortar la semilla en trozos de no más de 7 mm de ancho.

9.0.2 Ensayo para aceptar el método con temperatura alta y constante

El ensayo para la aceptación del método de alta temperatura constante, es decir, 1, 2, 3 o 4 horas a 130 °C, no es obligatorio y sólo es necesario cuando se realiza una solicitud para la inclusión del método de alta temperatura constante. Se trata de comparar el método de referencia con el método de alta temperatura constante mediante un ensayo comparativo.

Más información y detalles sobre los procedimientos utilizados para introducir nuevas especies se dan en el actual Manual ISTA de Determinación de la Humedad (*ISTA Handbook on Moisture Determination)*.

9.0.3 Ensayo para aceptar el método con temperatura baja y constante

El ensayo para la aceptación del método de baja temperatura y constante, es decir, 17 horas a 103 °C, se requiere cuando el método de alta temperatura constante es el método en las Reglas. Se trata de comparar el método de baja temperatura constante con el método de alta temperatura constante mediante un ensayo comparativo.

Más información y detalles sobre los procedimientos utilizados para introducir nuevas especies se dan en el actual *ISTA Handbook on Moisture Determination*.

9.1 Determinación del contenido de humedad mediante el método del horno a temperatura constante

9.1.1 Objeto

El objeto es determinar el contenido de humedad de las semillas mediante un método de horno para su uso rutinario.

9.1.2 Definición

El contenido de humedad de una muestra es la pérdida de peso cuando se seca, de acuerdo con los métodos descritos en este capítulo. Se expresa como un porcentaje del peso de la muestra original.

9.1.3 Principios generales

Los métodos prescritos están diseñados para reducir la oxidación, la descomposición o la pérdida de otras sustancias volátiles garantizando al mismo tiempo la eliminación de la humedad tanto como sea posible.

9.1.4 Aparatos

Dependiendo del método utilizado, se requiere el siguiente aparato:
- un molino;
- un horno calentado eléctricamente;
- contenedores;
- un secador;
- una báscula;
- tamices;
- una herramienta de corte.

9.1.4.1 Molino

El molino debe:
- estar hecho de un material que no absorba la humedad,
- ser fácil de limpiar y tener poco espacio muerto tanto como sea posible,
- permitir una molienda rápida y de manera uniforme, sin desarrollo apreciable de calor y, en la medida de lo posible, sin contacto con el aire exterior,
- ser ajustable a fin de obtener partículas de las dimensiones indicadas en 9.1.5.4.

9.1.4.2 Horno con temperatura constante

El horno debe ser calentado eléctricamente y capaz de ser controlado de tal manera que, durante el funcionamiento normal, la temperatura del aire y de los estantes en la zona donde se secan las muestras, sea 103 o 130 °C. El horno debe tener una capacidad calorífica tal que, cuando se ajusta inicialmente a una temperatura de 103 o 130 °C, se puede recuperar esta temperatura en menos de 30 minutos después de la inserción del número máximo de ensayos que se pueden secar simultáneamente.

La capacidad de secado del horno debe ser determinada usando una especie que requiere alta temperatura y un tiempo de secado menor o igual a 2 h.

La ventilación debe ser tal que después haber secado (2 horas a 130 °C o 17 horas a 103 °C), refrigerado y re-secado (1 h a 130 °C o 2 horas a 103 °C) el número máximo de porciones de ensayo, los resultados de las porciones de ensayo individuales no difieren en más de 0,15% (cualquiera de las dos temperaturas).

9.1.4.3 Contenedores

Los contenedores deben ser platos de metal, resistentes a la corrosión bajo las condiciones de prueba, o, en su defecto, platos de vidrio, con tapas y una superficie efectiva que permita que la muestra sea distribuida a fin de dar una masa, por unidad de superficie, de no más de 0,3 g/m^2.

9.1.4.4 Secador

El secador debe estar equipado con una placa de metal perforado para promover un rápido enfriamiento de los contenedores y debe contener un elemento secador eficaz.

9.1.4.5 Báscula

La báscula debe poder pesar con una precisión de al menos ±0.001 g.

9.1.4.6 Tamices

Se requieren tamices de alambre con mallas de 0,50, 1,00, 2,00 y 4,00 mm.

9.1.4.7 Herramienta de corte

Cuando se requieren cortes de acuerdo a la Tabla 9A Partes 1 y 2, como instrumentos de corte adecuado se pueden utilizar, por ejemplo, un cuchillo, un escalpelo o tijeras de podar.

9.1.5 Procedimientos

9.1.5.1 Indicaciones generales y precauciones

Véase Tabla 9A 1 y 2 para las indicaciones para las especies individuales.

La muestra remitida (véase 2.5.1.5-2.5.1.7 y 2.5.4.4) puede ser aceptada para la determinación de la humedad sólo si está en un envase intacto, a prueba de humedad, de la que se ha excluido la mayor cantidad de aire posible.

La determinación debe iniciarse tan pronto como sea posible después de la recepción. Antes del ensayo, la temperatura de la muestra debe equilibrarse a la del laboratorio, mientras que la muestra está todavía intacta en el recipiente a prueba de humedad.

Durante la determinación, la exposición de la muestra a la atmósfera del laboratorio debe reducirse al mínimo absoluto, y, en el caso de las especies que no requieren molienda, no más de dos minutos pueden transcurrir entre el momento del comienzo del muestreo de la muestra remitida de la humedad y el tiempo necesario para pesar las réplicas del ensayo de humedad.

La muestra remitida que queda después de la determinación de la humedad debe ser almacenada bajo condiciones controladas en un recipiente a prueba de humedad durante un período definido por el laboratorio, pero lo suficiente como para asegurar la posibilidad de volver al ensayo en caso de errores.

9.1.5.2 Muestra de trabajo

La determinación debe llevarse a cabo por duplicado en dos muestras de trabajo extraídas de forma independiente, cada una de los siguientes pesos, en función del diámetro de los recipientes utilizados:
Diámetro >5 cm y <8 cm: 4.5 ±0.5 g
Diámetro ≥8 cm: 10.0 g ±1.0 g

Para las semillas grandes de árboles y arbustos que tienen que ser cortadas (véase la Tabla 9A Parte 2), se puede requerir un tamaño de muestra de trabajo diferente. Para las semillas que tienen que ser cortadas, la muestra de trabajo debe ser suficiente para sacar dos repeticiones de aproxi-

madamente 5 g cada una, cortando por lo menos diez semillas intactas (véase 9.1.5.5).

Antes de extraer la muestra de trabajo, la muestra remitida se debe mezclar a fondo mediante uno de los métodos siguientes:

- agitar la muestra en su recipiente con una cuchara,
- colocar la apertura del envase original contra la apertura de un recipiente similar y verter la semilla de ida y vuelta entre los dos contenedores.

Tomar por lo mínimo tres submuestras con una cuchara de diferentes posiciones y mezclarlas para formar la submuestra del tamaño requerido. La semilla no puede estar expuesta al aire para la reducción de la muestra durante más de 30 s.

En el caso de corte o molido se deberá destinar una muestra de trabajo para cortar o moler y se deberán obtener, desde el material de corte/molido, dos repeticiones.

9.1.5.3 Pesaje

El pesaje debe estar de acuerdo con 3.5.1 y debe estar en gramos, por lo menos con tres cifras decimales.

Los recipientes y sus tapas se deben pesar antes y después del llenado.

Después de pesar, los contenedores si no se colocan directamente en el horno, deben cubrirse con sus tapas para evitar una posible contaminación o pérdida de muestra.

Los recipientes abiertos y sus tapas se colocan rápidamente en un horno mantenido a la temperatura requerida para las especies que se están probando (Tabla 9A Partes 1 y 2). El período de secado comienza en el momento que el horno vuelve a la temperatura requerida después de la colocación de los contenedores. Al final del periodo establecido, los contenedores tienen sus tapas reemplazadas antes de enfriar a temperatura ambiente en un secador.

Después de enfriar, se pesan los contenedores, con tapas y los contenidos secados.

9.1.5.4 Molienda

Las semillas grandes y semillas con cubiertas de las semillas que impiden la pérdida de agua de las semillas, deben ser molidas antes del secado, a menos que su alto contenido de aceite haga difíciles de moler o (particularmente en semillas tales como *Linum* con aceite con alto valor de yodo) susceptibles de ganar en peso a través de la oxidación del material molido.

Se permite el corte si la molienda no es posible. Véase 9.1.5.5 para más detalles.

Es obligatorio moler las semillas de una singular especie si esto se indica en la Tabla 9A Parte 1 o la Parte 2.

El molino debe ajustarse de modo que se obtengan partículas de las dimensiones requeridas. Para aquellas especies que requieren molienda fina (Tabla 9A Parte 1), al menos el 50 % del material molido debe pasar a través de un tamiz de alambre con mallas de 0,50 mm y no más del 10 % debe permanecer en un tamiz de alambre con mallas de 1,00 mm . Para aquellas especies que requieren molienda de grano grueso (Tabla 9A Partes 1 y 2), al menos el 50 % del material molido debe pasar a través de un tamiz de mallas de 4,00 mm, y no más del 55 % debe pasar por un tamiz de alambre con mallas de 2,00 mm.

El tiempo total de la molienda no debe exceder los 2 min.

Cuando se usa un molinillo, garantizar que no haya contaminación de una muestra a la otra.

9.1.5.5 Corte

Semillas grandes de árboles (peso de mil semillas > 200 g y si está prescrito en la Tabla 9A Parte 2) y semillas de árboles con cubiertas muy duras, como las de las *Fabaceae* y semillas con alto contenido de aceite, se deben cortar en pequeños trozos de menos de 7 mm en lugar de ser molidas. El corte debe llevarse a cabo sobre una muestra de trabajo procedente de la muestra remitida de al menos diez semillas intactas, para llegar a aproximadamente 10 g (dos repeticiones de aproximadamente 5 g cada uno).

Las submuestras se cortan rápidamente, se recombinan y se mezclan con una cuchara antes de dividirlas en dos repeticiones. Las réplicas se colocan en recipientes pesados. La exposición a la atmósfera no debe exceder los 4 min.

9.1.5.6 Presecado

El presecado es obligatorio si la especie es una para la cual la molienda es necesaria y el contenido de humedad es más alto que lo indicado en la Tabla 9A Parte 1. Dos submuestras, cada una pesando 25 ±1 g, se colocan en recipientes pesados. Las dos submuestras, en sus envases, se secan a continuación hasta 130 °C de 5 a 10 minutos, dependiendo del contenido de humedad, para reducir el contenido de humedad por debajo de lo requerido en las Tablas 9A Parte 1. El material parcialmente seco luego se mantiene expuesto en el laboratorio durante al menos 2 h.

En el caso de semillas de *Zea mays* muy húmedas (más de 25 % de contenido de humedad) la semilla se esparce en una capa no más profunda de 20 mm y se seca a 65-75 ºC durante 2-5 h, dependiendo del contenido de agua inicial. En el caso de otras especies con un contenido de humedad superior al 30 %, las muestras deben secarse durante la noche en un lugar cálido.

Después del presecado, las submuestras se vuelven a pesar en sus envases para determinar la pérdida de peso.

Inmediatamente después las dos submuestras, parcialmente secas, se muelen por separado. Una muestra de trabajo se extrae de cada submuestra. El esquema de la muestra de trabajo debería ser de acuerdo con 9.1.5.2. La humedad se determina según lo prescrito en 9.1.5.3.

El presecado no es obligatorio para las semillas que se cortan (Tabla 9A Parte 2).

9.1.5.7 Métodos prescritos

a) La muestra de trabajo, elaborada de acuerdo con 9.1.5.2, se debe distribuir de manera uniforme sobre la superficie del recipiente.
b) Pese el envase y su tapa antes y después del llenado.
c) Coloque el recipiente rápidamente, en la parte superior de su tapa o al lado de su portada, en un horno.
d) Véase Tabla 9A Partes 1 y 2 para los detalles adicionales con respecto a la molienda, la temperatura y la duración de cada especie.
e) Las tolerancias para las temperaturas y duraciones son:
101–105 °C (baja temperatura): 17 ±1 h,
130–133 °C (alta temperatura): 1 h ±3 min, 2 h ±6 min or 4 h ±12 min.
f) El período de secado comienza en el momento en el cual el horno vuelve a la temperatura requerida.
g) Al final del período prescrito, cubra el recipiente y colóquelo en un secador para enfriar a temperatura ambiente.
h) Después de enfriar, pese el recipiente con su tapa y el contenido.

Tabla 9A Parte 1. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas agrícolas y hortícolas

El método baja-temperatura (baja) o método alta temperatura (alta) debe ser utilizado como se especifica para la especie en esta Tabla.

Especie	Molienda/corte (9.1.5.4, 9.1.5.5)	Método que se utilizará	Secar a alta temperatura (h)	Requisito presecado (9.1.5.6)
1	2	3	4	5
Agrostis spp.	No	Alta	1	–
Allium spp.	No	Baja	–	–
Alopecurus pratensis	No	Alta	1	–
Anethum graveolens	No	Alta	1	–
Anthoxanthum odoratum	No	Alta	1	–
Anthriscus spp.	No	Alta	1	–
Apium graveolens	No	Alta	1	–
Arachis hypogaea	Cortar	Baja	–	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Arrhenatherum spp.	No	Alta	1	–
Asparagus officinalis	No	Alta	1	–
Avena spp.	Grano grueso	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Beta vulgaris	No	Alta	1	–
Brachiaria spp.	No	Alta	1	–
Brassica spp.	No	Baja	–	–
Bromus spp.	No	Alta	1	–
Camelina sativa	No	Baja	–	–
Cannabis sativa	No	Alta	1	–
Capsicum spp.	No	Baja	–	–
Carum carvi	No	Alta	1	–
Cenchrus spp.	No	Alta	1	–
Chloris gayana	No	Alta	1	–
Cicer arietinum	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Cichorium spp.	No	Alta	1	–
Citrullus lanatus	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Cucumis spp.	No	Alta	1	–
Cucurbita spp.	No	Alta	1	–
Cuminum cyminum	No	Alta	1	–
Cynodon dactylon	No	Alta	1	–

Tabla 9A Parte 1. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas agrícolas y hortícolas (continuación)

Especie	Molienda/corte (9.1.5.4, 9.1.5.5)	Método que se utilizará	Secar a alta temperatura (h)	Requisito presecado (9.1.5.6)
1	2	3	4	5
Cynosurus cristatus	No	Alta	1	–
Dactylis glomerata	No	Alta	1	–
Daucus carota	No	Alta	1	–
Deschampsia spp.	No	Alta	1	–
Elytrigia spp.	No	Alta	1	–
Fagopyrum esculentum	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Festuca spp.	No	Alta	1	–
Galega orientalis	No	Alta	1	–
Glycine max	Grano grueso	Baja	–	Hasta 12 % contenido de humedad o menos
Gossypium spp.	Fino	Baja	–	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Helianthus annuus	No	Baja	–	–
Holcus lanatus	No	Alta	1	–
Hordeum vulgare	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Lactuca sativa	No	Alta	1	–
Lathyrus spp.	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Lepidium sativum	No	Alta	1	–
Linum usitatissimum	No	Baja	–	–
Lolium spp.	No	Baja o alta	2	–
Lotus spp.	No	Alta	1	–
Lupinus spp.	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Macroptilium atropurpureum	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Medicago spp.	No	Alta	1	–
Melilotus spp.	No	Alta	1	–
Nicotiana tabacum	No	Alta	1	–
Onobrychis viciifolia	No	Alta	1	–
Ornithopus sativus	No	Alta	1	–
Oryza sativa	Fino	Alta	2	Hasta 13 % contenido de humedad o menos
Panicum spp.	No	Alta	2	–
Papaver somniferum	No	Alta	1	–
Paspalum spp.	No	Alta	1	–
Pastinaca sativa	No	Alta	1	–
Petroselinum crispum	No	Alta	1	–
Phacelia tanacetifolia	No	Alta	1	–
Phalaris spp.	No	Alta	1	–
Phaseolus spp.	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Phleum spp.	No	Alta	1	–
Pisum sativum	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Poa spp.	No	Alta	1	–
Raphanus sativus	No	Baja	–	–
Ricinus communis	Cortar	Baja	–	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Scorzonera hispanica	No	Alta	1	–
Secale cereale	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Sesamum indicum	No	Baja	–	–
Setaria spp.	No	Alta	1	–
Sinapis spp.	No	Baja	–	–
Solanum lycopersicum	No	Alta	1	–
Solanum melongena	No	Baja	–	–
Sorghum spp.	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Spinacia oleracea	No	Alta	1	–
Trifolium spp.	No	Alta	1	–
Trisetum flavescens	No	Alta	1	–

Especie	Molienda/corte (9.1.5.4, 9.1.5.5)	Método que se utilizará	Secar a alta temperatura (h)	Requisito presecado (9.1.5.6)
1	2	3	4	5
Triticum spp.	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
×*Triticosecale*	Fino	Alta	2	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Valerianella locusta	No	Alta	1	–
Vicia spp.	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Vigna spp.	Grano grueso	Alta	1	Hasta 17 % contenido de humedad o menos
Zea mays	Fino	Alta	4	Hasta 17 % contenido de humedad o menos; véase también 9.1.5.6

Tabla 9A Parte 2. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas de árboles y arbustos

El método a baja temperatura debe ser utilizado para todas las especies de la Tabla 9A Parte 2.

Especie	Molienda/corte (9.1.5.4, 9.1.5.5)	Observaciones
Abies spp. (TSW ≤200 g)	No	–
Abies spp. (TSW >200 g)	Cortar	Elevado contenido de aceite
Acacia spp.	Grano grueso	–
Acer spp.	Grano grueso	Debido a la heterogeneidad
Aesculus hippocastanum	Cortar	–
Ailanthus altissima	Grano grueso	–
Alnus spp.	No	–
Amorpha fruticosa	Grano grueso	Transferido desde Tabla 9A Parte 1
Berberis aquifolium	No	–
Betula spp.	No	–
Calocedrus decurrens	Grano grueso	–
Caragana arborescens	Grano grueso	–
Carpinus betulus	Grano grueso	–
Castanea sativa	Cortar	–
Catalpa spp.	Grano grueso	–
Cedrela spp.	No	–
Cedrus spp.	Cortar	Elevado contenido de aceite
Chamaecyparis spp.	No	–
Cornus spp. (TSW ≤200 g)	Grano grueso	Tegumento duro
Cornus spp. (TSW >200 g)	Grano grueso	–
Corylus avellana	Cortar	–
Corymbia spp.	No	–
Cotoneaster spp.	No	–
Crataegus monogyna	Grano grueso	–
Cryptomeria japonica	No	–
Cupressus spp.	No	–
Cydonia oblonga	No	–
Cytisus scoparius	Grano grueso	–
Elaeagnus angustifolia	Grano grueso	–
Eucalyptus spp.	No	–
Euonymus europaeus	Grano grueso	–
Fagus sylvatica	Cortar	–
Fraxinus spp.	Grano grueso	–
Ginkgo biloba	Cortar	–
Gleditsia triacanthos	Grano grueso	–
Ilex aquifolium	Grano grueso	–
Juniperus spp.	Grano grueso	–

Tabla 9A Parte 2. Detalles de los métodos para la determinación de la humedad: semillas de árboles y arbustos (continuación)

Especie	Molienda/corte (9.1.5.4, 9.1.5.5)	Observaciones
Koelreuteria paniculata	Grano grueso	–
Laburnum spp.	Grano grueso	–
Larix spp.	No	–
Larix ×eurolepis	No	–
Ligustrum vulgare	Grano grueso	–
Liquidambar styraciflua	No	Elevado contenido de aceite
Liriodendron tulipifera	Grano grueso	–
Malus spp. (except *M. sylvestris*)	No	–
Malus sylvestris	Grano grueso	–
Malva sylvestris	No	–
Morus spp.	No	–
Nothofagus spp.	No	–
Picea spp.	No	–
Pinus spp. (TSW ≤200 g)	No	–
Pinus spp. (TSW >200 g)	No	–
Platanus spp.	No	–
Populus spp.	No	–
Prunus spp.	Grano grueso	–
Pseudotsuga menziesii	No	–
Pyrus spp.	No	–
Quercus spp.	Cortar	–
Robinia pseudoacacia	Grano grueso	–
Rosa spp.	No	–
Salix spp.	No	–
Sequoia sempervirens	No	–
Sequoiadendron giganteum	No	–
Styphnolobium japonicum	Grano grueso	–
Sorbus spp.	No	–
Spartium junceum	Grano grueso	–
Syringa spp.	No	–
Taxodium distichum	Cortar	–
Taxus spp.	Grano grueso	–
Tectona grandis	Cortar	–
Thuja spp.	No	–
Tilia spp. (TSW ≤200 g)	No	–
Tilia spp. (TSW >200 g)	Grano grueso	–
Tsuga spp.	No	–
Ulmus spp.	No	–
Viburnum opulus	Grano grueso	–
Zelkova serrata	No	–

9.1.6 Cálculo y expresión de los resultados

9.1.6.1 Métodos con horno a temperatura constante

El contenido de humedad como porcentaje en peso se debe calcular con tres decimales para cada réplica, por medio de la siguiente fórmula:

$$\frac{\textit{Pérdida de peso}}{\textit{Peso inicial}} \cdot 100 = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \cdot 100$$

Donde

M_1 es el peso en gramos (para un mínimo de tres cifras decimales) del recipiente y su tapa,

M_2 es el peso en gramos (para un mínimo de tres cifras decimales) del recipiente, su tapa y su contenido antes del secado, y

M_3 es el peso en gramos (para un mínimo de tres cifras decimales) del recipiente, su tapa y su contenido después del secado.

Si se seca previamente el material, el contenido de humedad se calcula a partir de los resultados obtenidos en la primera (presecado) y segunda etapa del procedimiento. Si S_1 es la humedad perdida en la primera etapa y S_2 es la humedad perdida en la segunda etapa, cada uno calculado como anteriormente y expreso como porcentaje, entonces, el contenido de humedad original de la muestra calculada en porcentaje es:

$$(S_1 + S_2) - \frac{S_1 \times S_2}{100}$$

9.1.6.2 Tolerancias

Se debe calcular la diferencia con tres decimales y se debe redondeado a un decimal. La diferencia máxima entre las dos réplicas no debe exceder de 0,2 % después del redondeo de tres a una cifra decimal. En caso contrario, repita la determinación por duplicado. El resultado reportado es la media aritmética de los resultados de dos muestras de trabajo (véase 9.1.7). Para los árboles y especies arbustivas (Tabla 9A Parte 2), se ha encontrado imposible cumplir con una tolerancia de 0,2 % y se prescriben tolerancias de 0,3 a 2,5 %. Estas están relacionadas con el tamaño de la semilla y el contenido de humedad inicial (Tabla 9B).

Para utilizar la Tabla 9B, en la columna 1, seleccione la fila correspondiente, dependiendo del tamaño de la semilla. A continuación, seleccione la columna correcta (2, 3 o 4) en función del contenido de humedad inicial de la muestra.

Tabla 9B. Niveles de tolerancia de las diferencias entre las dos determinaciones duplicadas del contenido de humedad de las semillas de árboles y arbustos (nivel de significación no definido).

Tamaño de la semilla	Contenido promedio de humedad inicial		
	<12 %	12–25 %	>25 %
1	2	3	4
Pequeño: TSW <200 g	0.3 %	0.5 %	0.5 %
Grande: TSW ≥200 g	0.4 %	0.8 %	2.5 %

(Fuente: F.T. Bonner (1984). Tolerance limits in measurement of tree seed moisture. *Seed Science and Technology* **12**, 789–794, 1984. [Tabla 3])

Si los resultados de las determinaciones duplicadas están fuera de la tolerancia, repita la prueba a partir de 9.1.5.2. Para las pruebas repetidas, reporte el resultado del segundo ensayo si sus réplicas están dentro de la tolerancia. Si las repeticiones de la segunda determinación están también fuera de la tolerancia, compruebe si la media de los dos ensayos están en la tolerancia (0.2 % o Tabla 9B). Si es así, reporte este promedio. Si réplicas de ambas pruebas están fuera de la tolerancia y los resultados medios de los ensayos repetidos están fuera de la tolerancia, descarte los resultados, revise el equipo, los procedimientos del laboratorio y empiece de nuevo.

9.1.7 Indicación de los resultados

El resultado de un ensayo de contenido de humedad debe ser indicado en el espacio correspondiente al 0.1 % más cercano.

Debe ser reportado el método (duración y temperatura).

También deben ser reportadas las siguientes informaciones en "Otras determinaciones" *(Other determinations)*:

– Si en la muestra estuvieran presentes semillas germinadas, se debe registrar la siguiente declaración: "En la muestra de humedad remitida se encontraron semillas germinadas".
– Si en la muestra estuvieran presentes semillas mohosas, se debe registrar la siguiente declaración: "En la muestra de humedad remitida se encontraron semillas mohosas".
– En el caso de semillas peletizadas (véase el Capítulo 11), se debe registrar la siguiente declaración: "Las semillas de la muestra de humedad remitida eran peletizadas y el contenido de humedad reportado es el promedio de las semillas y del material de revestimiento".

9.2 Determinación del contenido de humedad mediante medidores de humedad

9.2.1 Calibración de los medidores de humedad

9.2.1.1 Objeto

El objeto es preparar las muestras de chequeo que se utilizarán para la calibración de los medidores de humedad y para comprobar la calibración de los medidores de humedad.

9.2.1.2 Definiciones

Véase 9.1.2.

9.2.1.3 Principios generales

Los métodos descritos se han desarrollado para la comparación de los resultados de los medidores de humedad, con los obtenidos por el método del horno (ver 9.1). Se pueden utilizar todos los medidores de humedad siempre y cuando se cumplan los requisitos de calibración y los requisitos de la determinación.

La calibración debe realizarse al menos una vez cada año. Se requiere un reportaje de calibración para cada especie analizada por medio de una medidor de humedad.

Debe ser implementado un programa de monitorio del medidor de humedad. Las muestras de chequeo deben ser medidas en el medidor de humedad mediante el procedimiento normal (9.2.2) y el contenido de humedad debe ser determinado una vez utilizando el método del horno (9.1).

9.2.1.4 Aparatos

Los siguientes aparatos son necesarios, dependiendo del método utilizado:

Medidor de humedad:

- Se debe indicar con claridad el nombre de las especies seleccionadas cuando el medidor de humedad indica el contenido de humedad directamente.
- Cuando el medidor de humedad no indica el contenido de humedad directamente, debe estar disponible una tabla (s) de conversión para cada especie estudiada. Cuando se utilizan tablas de conversión, los requisitos relativos al intervalo de escala (véase 3) y las diferencias máximas admisibles (véase 9.2.1.6.3) se aplican a los resultados del contenido de humedad obtenidos a partir de las tablas de conversión (expresado como un porcentaje) y no a la lectura dada en la escala convencional del medidor de humedad.
- El intervalo de escala debe ser tal que el contenido de humedad se pueda leer por lo menos a un decimal.
- La carcasa de los medidores de humedad debe ser robusta y construida de modo que los principales componentes del instrumento son inaccesibles y protegidos contra el polvo y la humedad.

Contenedores, hermético.

Tamices: adecuados para la especie en cuestión, para eliminar las impurezas de la muestra de chequeo que pudieran interferir con la medición.

Molinillo: si el manual de instrucciones del medidor de humedad electrónico especifica molienda, debe ser molida una submuestra de la muestra remitida. La finura de la molienda debe estar de acuerdo con el manual específico del medidor de humedad. Si no se especifica en el manual debería estar de acuerdo con 9.1.5.4.

Báscula: apropiada para la medida en cuestión (véase 3.5.1).

Vèase 9.1.4 para aparatos que necesitan el método del horno como referencia.

9.2.1.5 Procedimientos

9.2.1.5.1 Precauciones

La calibración de los medidores de humedad puede verse afectada por muchas variables, incluyendo las especies, la variedad, la madurez, la humedad, la temperatura y el nivel de impurezas.

El medidor de humedad y las muestras deben equilibrarse a la misma temperatura antes de realizar las evaluaciones. Durante la determinación se debe reducir al mínimo absoluto la exposición de la muestra a la atmósfera del laboratorio.

9.2.1.5.2 Muestra de calibración

Cinco muestras deben ser obtenidas de cada una de las dos variedades (como mínimo) de la especie para la que se calibra el medidor de humedad. Las muestras de cada variedad deben tener un rango de contenidos de humedad que cubren uniformemente el rango de medición requerido del medidor de humedad. Las muestras pueden estar condicionadas si el conjunto no está disponible a partir de muestras naturales.

Es necesario una calibración por variedad o grupo de variedades si hay evidencia de que las variedades de una especie dan resultados significativamente diferentes.

Las muestras seleccionadas deben estar libres de moho, fermentación y de semillas germinadas.

Si las muestras contienen impurezas que puedan interferir con la medición, deben ser limpiadas a mano, usando tamices o un separador mecánico.

Contenedores de muestras de calibración deben ser a prueba de humedad y llenos por lo menos dos tercios de su capacidad. Si el recipiente está demasiado lleno, la muestra no puede ser completamente mezclada. Si el recipiente no está suficientemente lleno no puede haber intercambios higrométricas entre las semillas y el aire que está presente en el contenedor y esto puede resultar en una modificación del contenido de humedad de la muestra en el período anterior a la prueba. Los recipientes deben estar sellados y almacenados a 5 ±2 °C. Los contenedores sellados deben ser movidos a la sala que contiene el medidor de humedad por lo menos 24 h antes de su uso para asegurarse de que la temperatura de la semilla se ha equilibrado con la temperatura del medidor.

9.2.1.5.3 Muestra de trabajo a partir de la muestra de calibración

Las muestras de trabajo deben extraerse después de mezclar a fondo, usando uno de los siguientes métodos:

- agitando la muestra en su recipiente con una cuchara,
- colocando la apertura del envase original contra la apertura de un recipiente similar y vertiendo la semilla de ida y vuelta entre los dos contenedores.

Cada muestra de trabajo debe ser extraída de tal manera que la muestra no está expuesta al aire durante más de 30 s.

9.2.1.5.4 Pesaje

El pesaje, cuando necesario, debe estar de acuerdo con 3.5.1.

9.2.1.5.5 Métodos prescritos

El contenido de humedad de las muestras de calibración se evalúa mediante el método del horno (véase 9.1), que es el método de referencia.

Se hacen tres mediciones sucesivas en cada muestra de calibración, utilizando el medidor de humedad de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Después de cada medición, la muestra analizada se recombina con la muestra de calibración de la que se ha extraído. La muestra de calibración se mezcla a fondo antes de extraer la siguiente muestra de trabajo (véase 9.2.1.5.3). Cuando la determinación es destructiva, las mediciones deben llevarse a cabo en tres muestras de trabajo independientes.

El contenido de humedad de las muestras de calibración debe ser revisado de nuevo después de la medición, utilizando el método del horno de referencia (véase 9.1).

9.2.1.6 Cálculo y expresión de los resultados

9.2.1.6.1 Referencia método del horno

Para cada muestra de ensayo están disponibles dos resultados de referencia: x1, obtenido antes de medir el contenido de humedad con el medidor de la humedad y x2, obtenido después de medir el contenido de humedad con el medidor de la humedad. Se toma como el valor verdadero (x_t) del contenido de humedad la media de estos dos valores, siempre que la diferencia entre las lecturas no sea mayor que 0,3 %. Debe repetirse si la diferencia es mayor que 0,3 %, la calibración.

9.2.1.6.2 Medidores de humedad

Para cada muestra de calibración están disponibles tres resultados (y_1, y_2, y_3).

Calcular el resultado medio y_x [$y_x = (y_1 + y_2 + y_3)/3$] y z_i (la diferencia de y_x de la verdadera x_t valor del contenido de humedad [véase 9.2.1.6.1]): $z_i = y_x - x_t$.

9.2.1.6.3 Diferencias máximas admisibles

Un medidor de humedad se considera que está dentro de la calibración cuando z_i (la diferencia entre y_x y el verdadero valor x_t) es inferior a las siguientes diferencias máximas admisibles (Tabla 9C).

Tabla 9C. Diferencias admisibles del valor real

Valor real (método de referencia)	Diferencia máxima admisible	
	Semillas no brozosas	Semillas brozosas
<10,0 %	±0,4 %	±0,5 %
≥10,0 %	±0,04 × contenido de humedad	±0,05 × contenido de humedad

Para la comparación se debe utilizar el resultado promedio de las réplicas después de redondear a un decimal.

9.2.1.7 Resultados de las calibraciones

Los resultados de las calibraciones deben registrarse y conservarse durante al menos 6 años.

9.2.2 Determinación del contenido de humedad (medidores de humedad)

9.2.2.1 Objetos

El objeto es determinar el contenido de humedad de una determinada especie de semilla usando un medidor de humedad calibrado.

9.2.2.2 Principios generales

El contenido de humedad de una muestra de semilla afecta a sus propiedades físico-químicas y eléctricas. Estas pueden ser medidas y los medidores están disponibles para las determinaciones rutinarias del contenido de humedad.

9.2.2.3 Aparatos

El siguiente aparato es necesario, dependiendo del método utilizado:
- medidor de humedad;
- contenedores, hermético;
- molinillo;
- báscula.

Los detalles de este equipo están en 9.2.1.4.

9.2.2.4 Procedimientos

9.2.2.4.1 Precauciones

La muestra remitida (véase 2.5.1.5-2.5.1.7 y 2.5.4.4) puede ser aceptada para la determinación de humedad sólo si está en un envase intacto y a prueba de humedad, de la que se ha excluido la mayor cantidad de aire posible.

La determinación debe iniciarse tan pronto como sea posible después de la recepción. Antes del ensayo, la temperatura de la muestra debe equilibrarse a la del laboratorio de análisis, mientras que la muestra está todavía intacta en el recipiente a prueba de humedad.

Durante la determinación, la exposición de la muestra a la atmósfera del laboratorio se debe reducir al mínimo absoluto.

Cuando la temperatura de la muestra es muy diferente de la temperatura ambiente donde se hace funcionar el medidor de humedad, existe un riesgo de condensación. Antes del ensayo, las muestras, por tanto, deben equilibrarse a la temperatura ambiente deseada.

9.2.2.4.2 Muestra de trabajo

La determinación debe llevarse a cabo por duplicado en dos muestras de trabajo extraídas de forma independiente cada una del peso/volumen requerido para la medida especificada.

Antes de extraer la muestra de trabajo, se debe mezclar a fondo la muestra remitida por uno de los métodos siguientes:
- o agitando la muestra en su recipiente con una cuchara,
- o colocando la apertura del envase original contra la apertura de un recipiente similar y vertiendo la semilla de ida y vuelta entre los dos contenedores.

Cada muestra de trabajo debe ser elaborada de tal manera que la muestra no está expuesta al aire durante más de 30 s.

9.2.2.4.3 Pesaje

El pesaje, cuando necesario, debe estar de acuerdo con 3.5.1.

9.2.2.5 Cálculo y expresión de los resultados

El contenido de humedad en porcentaje en peso se debe calcular con un decimal mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{M_1 + M_2}{2}$$

Donde M_1 y M_2 son las lecturas de las repeticiones 1 y 2 del medidor.

9.2.2.6 Tolerancias

Si la diferencia entre las dos no excede de 0,2 %, el resultado es la media aritmética de las mediciones del duplicado.

Si los resultados de las mediciones del duplicado están fuera de tolerancia, repita el ensayo. Para los ensayos repetidas, informar del resultado de la segunda ensayo si sus réplicas están en la tolerancia. Si también las réplicas de la segunda medición están en la tolerancia, comprobar si la media de los dos ensayos están en la tolerancia (0.2 % o Tabla 9B). Si es así, reporte este promedio. Si réplicas de ambos ensayos están fuera de la tolerancia y los resultados medios de los ensayos repetidos están fuera de la tolerancia, descarte los resultados, compruebe el equipo y los procedimientos de laboratorio, y empiece de nuevo.

El resultado indicado se redondea a un decimal.

9.2.2.7 Indicación de los resultados del medidor de humedad

El resultado de un ensayo de contenido de humedad debe ser indicado en el espacio correspondiente al 0.1 % más cercano.

Debe también ser indicada en "Otras determinaciones" *(Other determinations)* la siguiente información:

- Se debe registrar la siguiente declaración: (Se utilizó un medidor de humedad).
- Se debe ingresar la siguiente declaración si semillas en germinación estuvieran presentes en la muestra: (Se encontraron en la muestra de humedad remitida semillas en germinación).
- Se debe ingresar la siguiente declaración si semillas mohosas estuvieran presentes en la muestra: (Se encontraron en la muestra de humedad remitida semillas mohosas).
- En el caso de semillas peletizadas (véase Capítulo 11), se debe registrar la siguiente declaración: (Las semillas de la muestra de humedad remitida estaban peletizadas y el contenido de humedad indicado es el promedio de semillas y material de revestimiento).

9.2.2.8 Control sistemático del medidor de humedad y de los resultados de contenido de humedad del horno

Debe ser usada Tabla 9D al verificar los medidores de humedad en contraste con los resultados del horno.

Para las muestras de verificación, un máximo de 5% puede tener una diferencia mayor que la diferencia máxima admisible. Se requiere una nueva calibración si más del 5 % de las muestras tienen diferencias superiores (véase 9.2.1).

Tabla 9D. Límites de tolerancia de las diferencias entre las mediciones de humedad del horno con temperatura constante y las mediciones del medidor de humedad.

Promedio medición horno (promedio; %)	Tolerancia
Semillas brozosas	
<10,9 %	0,5
11–12,9 %	0,6
13–14,9 %	0,7
15–16,9 %	0,8
17,0–18,0 %	0,9
Semillas no brozosas	
<11,3 %	0,4
11,3–13,7 %	0,5
13,8–16,2 %	0,6
16,3–18,0 %	0,7

9.2.2.9 Comprobación de los resultados de diferentes medidores de humedad

Se debe utilizar Tabla 9E para comprobar dos medidores de humedad entre si.

Tabla 9E. Límites de tolerancia de las diferencias entre las determinaciones de humedad realizadas utilizando diferentes medidores de humedad

Contenido de humedad (promedio de 2 medidas; %)	Tolerancia
Semillas brozosas	
<10,5 %	1,0
10,5–11,4 %	1,1
11,5–12,4 %	1,2
12,5–13,4 %	1,3
13,5–14,4 %	1,4
14,5–15,4 %	1,5
15,5–16,4 %	1,6
16,5–17,4 %	1,7
17,5–18,0 %	1,8
Semillas no brozosas	
<10,7 %	0,8
10,7–11,8 %	0,9
11,9–13,1 %	1,0
13,2–14,3 %	1,1
14,4–15,6 %	1,2
15,7–16,8 %	1,3
16,9–18,0 %	1,4