

TRABAJO ESPECIAL DE INVESTIGACIÓN

Aplicaciones estadísticas en el sector agroindustrial y semillero venezolano:
**EFFECTO DE DOS SISTEMAS DE ACONDICIONAMIENTO Y
ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD FITOSANITARIA, PUREZA
VARIETAL E IDENTIDAD GENÉTICA DE SEMILLA COMÚN DE
CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L).**

Trabajo especial de Investigación
Presentado ante el Honorable Consejo de la Facultad de Ingeniería
de la Universidad Central de Venezuela
por el Ing. MSc. Luis Alexander Díaz Martínez
En el marco del concurso de oposición al cargo de Profesor Asistente
Tiempo Completo en la Unidad Docente de Estadística del
Departamento de Matemática Aplicada
de la Escuela de Ingeniería en Procesos Industriales.

Maracay, noviembre de 2024.

TRABAJO ESPECIAL DE INVESTIGACIÓN

Aplicaciones estadísticas en el sector agroindustrial y semillero venezolano.
**EFFECTO DE DOS SISTEMAS DE ACONDICIONAMIENTO Y
ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD FITOSANITARIA, PUREZA
VARIETAL E IDENTIDAD GENÉTICA DE SEMILLA COMÚN DE
CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L).**

Trabajo especial de investigación presentado al Honorable Consejo de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela, según el contexto de lo establecido en los artículos 33, numeral (a), 79, 80, 81 y 82 del Reglamento del Personal Docente y de Investigación de la UCV, para el concurso de oposición al cargo de Profesor Asistente Tiempo Completo en la Unidad Docente de Estadística del Departamento de Matemática Aplicada de la Escuela de Ingeniería en Procesos Industriales.

Áreas temáticas de investigación:

estadística aplicada, diseño de experimentos, control estadístico de la calidad y procesos industriales.

Maracay, noviembre de 2024.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por permitirme a diario seguir luchando por una Venezuela mejor y más justa.

A mis padres, en especial a mi madre Carmen Luisa, donde quiera que estés te sigo amando con locura.
Te extraño demasiado cada día.

A mi familia, en especial a Carliz Elena Luis Enrique, Careliz José, Luisana Aramis y Luis Enrique, gracias por su eterno apoyo incondicional.

A Javier Eduardo y a mi compañerita Manchas, somos una manada de tres.

A la Universidad Central de Venezuela, quien me ha permitido formarme en sus aulas desde mi génesis como estudiante universitario.
Soy UCEVISTA desde y hasta mi ADN.

A mis queridas amigas y compañeras de trabajo Isabel Elena Díaz, Dhoryvel Cabrera Solano, Ligia Hernández, Jenny Bengochea, Bianca Díaz y Adriana Villegas.

A todos mis queridos estudiantes que me han elegido como su tutor de trabajo de grado y padrino de tantas promociones de Ingenieros en Procesos Industriales.
El aprendizaje que han dejado en mí ha sido de gran relevancia para mi ejercicio profesional y para la vida.

Al Sr. Eduardo Pérez dueño de la Unidad de Producción Finca Valle Hermoso, y a su hijo el Ing. Eduardo Pérez por ser parte fundamental de los experimentos de esta investigación.

Al Ing. José Zamora y al personal del Laboratorio de Calidad de la empresa Prosevenca.

A todos los colegas de la Facultad de Ingeniería, en especial a los docentes de la Escuela de Procesos Industriales, UCV.

A ti...

RESUMEN

En Venezuela, la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) procedente de pequeños agricultores es reproducida normalmente por granos que son empleados como semilla, razón por la que deben establecerse ciertos requisitos de calidad que permitan una buena producción en los siguientes ciclos de siembra. En el presente estudio, se desarrolló una evaluación, basada en un diseño de campo y experimental, para comparar como los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento artesanal e industrial, afectan su salud, pureza varietal e identidad genética. Para el caso de salud, se estudió la incidencia de *Fusarium*, analizando sus resultados por la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney, mientras que, para los mohos, se aplicó la prueba t de *student*. En los estudios genéticos, se usaron las isoenzimas alfa, beta y peroxidasa. Su análisis se hizo por métodos estadísticos multivariados (agrupamientos por clúster). Se lograron determinar diferencias estadísticas con un nivel de significancia de 5%, en la incidencia de *Fusarium*, con valores superiores en el sistema artesanal. Para los mohos, se obtuvieron de igual forma diferencias estadísticas, con mayor incidencia para el sistema industrial. En los ensayos genéticos, no se logró determinar la pureza e identidad varietal. Se verificó que la salud está influenciada por la forma en que se acondiciona y se almacena la semilla común de caraota. Finalmente, se comprobó que las labores de campo afectaron la identidad y pureza del material vegetal objeto de estudio.

Palabras claves: sistema industrial, sistema artesanal, calidad, *Phaseolus vulgaris* L, semilla.

ABSTRACT

In Venezuela, the black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) produce by small farmers is generally propagated by grain that are used as seed, for this reason, certain quality requirements must be established to allow production in the following cycles of farming. In the present study, was developed an evaluation, based on a field and experimental design, to compare how artisanal and industrial conditioning and storage systems affect the health, varietal purity and genetic identity of the seed. In the health case, the incidence of *Fusarium* was studied, analyzing the results by the test Wilcoxon-Mann-Whitney, while for molds, the Student's t-test was applied. In the genetic studies, were used the isoenzymes alpha, beta and peroxidase. Their analysis was by multivariate methods (cluster analysis). Statistically were found differences significant at a 5% level in the incidence of *Fusarium*, with higher values in the artisanal system. For molds, statistical was differences were also obtained, with a higher incidence for the industrial system. was not demonstrated the purity was nor varietal identity determined in the genetic studies. It has been proven that the black bean seeds are conditioned and stored influences their health. Finally, the labors of field influenced the identity and purity in the plant material in the study.

Keywords: seed, industrial system, artisanal system, quality, *Phaseolus vulgaris* L.

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA	i
CONTRAPORTADA	i
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
TABLA DE CONTENIDO	vi
INTRODUCCIÓN	1
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
Antecedentes	6
Bases teóricas	8
Tipo de investigación	11
Nivel de la investigación	11
Diseño de la investigación	11
Fases metodológicas	12
Descripción de los procesos en los sistemas	12
Análisis de los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento	12
Comparación del efecto de los sistemas	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
Descripción de los procesos en los sistemas	20
Análisis de los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento	24
Comparación del efecto de los sistemas	30
CONCLUSIONES	33
LISTA DE REFERENCIAS	34

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, según la ley, las semillas son un ser vivo y parte constituyente de la Madre Tierra y por tanto son objeto y sujeto de derecho y de aplicación de las normas sobre preservación de la vida y la biodiversidad en el planeta (Ley de Semillas, 2015). La precitada ley, en su Artículo 11, establece seis categorías de semillas: 1) la local, 2) la común, 3) la genética, 4) la básica o de fundación, 5) la registrada y 6) la certificada o comercial. Las categorías 1 y 2, son consideradas semillas informales, mientras que el resto, hacen parte del sistema de certificación formal.

La semilla común se define como aquella que reúne los requisitos mínimos de calidad y sanidad establecidos, sin estar involucradas en el proceso de certificación (Ley de Semillas, 2015). Independientemente de la categoría establecida en la ley, dicho material vegetal deberá cumplir con un conjunto de características físicas, fisiológicas, sanitarias y genéticas, para que sea procedente su uso como elemento de reproducción.

Desde el punto de vista general, la calidad es un conjunto de características que el consumidor evalúa para decidir si un producto satisface o se adecúa a sus expectativas (Montgomery, 2004). La norma ISO 9001 (2015), la define como el grado en el que un conjunto de características inherentes a un objeto (producto, servicio, proceso, persona, organización, sistema o recurso) cumple con el propósito para el cual fue diseñado. De manera especial, el autor de la presente investigación considera que la calidad es un concepto que está en constante evolución y que se ajusta a las necesidades crecientes y cambiantes del ser humano.

Por otra parte, y no menos alejado de las ideas anteriores, la calidad industrial se define como las acciones de control y gestión que se realizan sobre cualquier proceso para manejar y disminuir, o reducir, la variabilidad (Montgomery, 2019). Es importante destacar que, la calidad industrial se centra en satisfacer de manera correcta y equilibrada los aspectos legales, así como todas las características y cualidades que debe tener un producto con respecto a las necesidades de los clientes, los consumidores y la funcionalidad del objeto, denominado calidad total.

En el presente trabajo de investigación, se planteó hacer una comparación entre el método tradicional de acondicionamiento y almacenamiento de semillas, en relación con el método propuesto (industrializado), específicamente para conocer como varía el estatus de salud y la pureza genética y la identidad varietal del material objeto de estudio. El mismo, se desarrolló como parte de una alianza estratégica entre el sector industrial semillero y la Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ingeniería, Escuela de Procesos Industriales.

Para tales fines, y basados en la experiencia del autor en los temas de semillas, genética, calidad, estadística y procesos agroindustriales, se diseñaron una serie de experimentos, que fueron analizados mediante el uso de herramientas estadística paramétrica, no paramétrica y de técnicas multivariantes, para obtener el máximo potencial de los datos derivados de los experimentos para la toma de decisiones informadas en la materia de estudio. El fin del mismo, fue dar una solución real a la producción de semilla artesanal de caraota, siendo este un cultivo de importancia para pequeños y medianos productores del país, además de poseer una notabilidad significativa en la alimentación del venezolano.

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En Venezuela, la producción de caraota históricamente ha estado en manos de los pequeños agricultores, quienes por lo general utilizan semilla de la cosecha anterior o intercambian material entre vecinos, utilizando grano de consumo como material de propagación. Estos, procesan la semilla a través de sistemas artesanales de acondicionamiento y almacenamiento que, muchas veces no logran reducir, de forma contundente, el deterioro natural de estas, lo que deriva en una disminución en la producción de este cultivo (Doria, 2010).

En San Joaquín, estado Carabobo, se encuentra la Unidad de Producción Agrícola (UPA) Valle Hermoso, la cual posee una extensión de 37 hectáreas, en la que se produce caraota negra, durante la época de secano (salidas de lluvia, septiembre – octubre). La unidad de producción, adquirió en 2016, semilla certificada del cultivar 'Magdaleno', y gracias a que la especie es autógama¹, la organización ha podido autoabastecerse con semilla común², que obtiene de su producción, para darle continuidad año tras año a los ciclos de siembra de este rubro.

El problema se origina, cuando el productor notó una disminución en la producción promedio del cultivo de caraota negra, pasando de producir 1200 kg.ha⁻¹, a obtener 1000 kg.ha⁻¹ (en 2019), lo que reflejó para ese período una disminución del 16,66%. Además de esto, el productor notó un descenso en la tasa de germinación de 80% (en 2017), a 65% (en 2019) (variación de 15%). Por otra parte, el productor destina, en cada ciclo de producción, 2200 kg de granos para ser procesados y almacenados como semilla común, sometiendo dicho lote a una serie de operaciones artesanales de acondicionamiento y almacenamiento.

¹ Es la fusión de gametos femeninos y masculinos producidos por el mismo individuo.

² Semilla que reúne los requisitos mínimos de calidad y sanidad establecidos, sin estar involucradas en el proceso de declaratoria de certeza, que otorga el Estado determinando el origen, la identidad genética, calidad y el desempeño agroproductivo del material apto para la reproducción de semillas sujetas al sistema de certificación formal, de conformidad con lo establecido en la Ley de Semillas (2015).

Dado el escenario anterior, surgió la iniciativa de desarrollar la presente investigación, con la finalidad de aportar una solución que permitiese minimizar la pérdida de producción de granos, asociados con el descenso en la calidad de la semilla de caraota.

Por esta razón, se le recomendó a la UPA solicitar los servicios de acondicionamiento y almacenamiento de semillas a la planta Procesadora de Semillas Venezuela (Prosevenca), además de realizar una serie de pruebas de laboratorio especializadas, siempre con el apoyo científico-técnico de la Universidad Central de Venezuela, por intermedio de la Escuela de Procesos Industriales, y basadas en el uso de la estadística para fundamentar la toma de decisión final derivada de los ensayos pertinentes para lograr resultados veraces, repetibles y confiables.

Por tanto, se consideró necesario contrastar la calidad de semilla que se genera en los sistemas artesanal e industrial, aplicando las instrucciones validadas por la norma de la Asociación Internacional de Ensayos de Semilla (ISTA, por sus siglas en inglés), por lo que se desarrollaron una serie de pruebas de laboratorio especializadas y se aplicaron diferentes técnicas estadísticas, para establecer la causalidad del problema planteado.

Es por ello que, esta investigación buscó darle respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿hasta qué punto los sistemas industriales de acondicionamiento y almacenamiento afectan la calidad fitosanitaria, pureza varietal e identidad genética de semilla común de caraota?

Objetivos de la investigación

General

- Evaluar el efecto de los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento en la calidad fitosanitaria, pureza varietal e identidad genética de semilla común de caraota.

Específicos

- Describir los procesos de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento de semilla común de caraota.
- Analizar como los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento afecta la calidad fitosanitaria, pureza varietal e identidad genética de semilla común de caraota.
- Comparar el efecto de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento de semilla común de caraota.

MARCO DE REFERENCIA

En esta investigación, se abordaron un conjunto de antecedentes y conceptos que aportaron solidez y credibilidad al estudio. El marco referencial, se construyó a través de una exhaustiva revisión documental y bibliográfica que recopiló ideas, posturas de autores, conceptos y definiciones relevantes para fundamentar el estudio (Arias, 2012). Así, dicho marco se convirtió en un pilar fundamental que respaldó cada uno de los aspectos tratados en la literatura especializada existente (Arias, 2012).

Antecedentes

Díaz y Pérez (2024), en su trabajo de investigación sobre calidad física y fisiológica evaluaron la semilla común de caraota sometidas a los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento, para lo cual realizaron una serie de ensayos referenciados en la *International Seed Testing Association* (ISTA, 2016), y para determinar los estándares de calidad física y fisiológica para cada lote. Se desarrolló un estudio evaluativo, basado en un diseño de campo, para determinar la efectividad de las operaciones aplicadas en tales sistemas. Se estudió la semilla proveniente de una finca ubicada en el estado Carabobo, Venezuela, del ciclo de producción 2021/2022. El lote artesanal se almacenó en el galpón de la finca en condiciones ambientales, mientras que el lote industrial se almacenó en una cava, ambos durante seis meses. Se seleccionaron de manera aleatoria 15 sacos por cinco repeticiones. De cada saco, se extrajeron muestras primarias de 200 g que se iban combinando en bolsas plásticas, hasta obtener las cinco muestras compuestas de 3 kg. De cada muestra compuesta, se extrajeron cuatro muestras de trabajo para estudiar los componentes físicos y fisiológicos. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El análisis de los datos, se hizo por la prueba t de *student* con un nivel de significancia de 5%. En este estudio, se logró determinar que existen diferencias significativas entre los lotes para todas las características de calidad estudiadas, con mejores valores medios para el sistema industrial, además de que todos los valores de este sistema se encuentran dentro de los límites de referencia de calidad. Este trabajo sirvió de base, para conocer a profundidad como los procesos de acondicionamiento y almacenamiento afectan la calidad de un producto.

Pérez, 2021, en su trabajo de investigación titulado: Evaluación de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento de semilla común de caraota (*Phaseolus vulgaris* L), evaluó las condiciones de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento de semilla común de caraota, y estableció una serie de ensayos referenciados en la norma ISTA (2016), para estudiar la calidad de la semilla, y de ahí comparar ambos sistemas tomando en cuenta las necesidades de la unidad de producción agrícola (UPA) Valle Hermoso. El autor, desarrolló una investigación evaluativa, en la que midió la efectividad de los sistemas artesanal e industrial aplicados en semilla, mediante la descripción, análisis y comparación de los sistemas, para la evaluación de calidad física, fisiológica, fitosanitaria (salud) y genética. La investigación fue de tipo integrativo, con un diseño de campo. Entre los resultados más relevantes, se indica que el sistema artesanal consta de nueve (09) operaciones, mientras que el sistema industrial consta de doce (12) operaciones, destacando que las semillas han tenido exactamente el mismo manejo agronómico y se diferencian desde el proceso de secado; con respecto a los ensayos de humedad, pureza y peso específico, germinación y vigor (emergencia de la radícula), el autor logró determinar que, existen diferencias estadísticamente significativas entre los lotes; en el ensayo de salud de semillas (incidencia de patógenos), se determinó que hay diferencias significativas entre los lotes, donde el lote industrial posee un porcentaje de semillas afectadas inferior a su contraparte, finalmente, en el ensayo genético, se verificó la pureza varietal en la semilla común proveniente del sistema artesanal, por lo que ese lote de semilla podrá ser utilizada para el siguiente ciclo de producción agrícola de la finca Valle Hermoso. Por las consideraciones antes expuestas, el presente trabajo final de grado, sentó una base sólida para considerar que la UPA Valle Hermoso deba realizar el acondicionamiento y almacenamiento de la semilla común de caraota de forma industrial. Dicho trabajo, fue el inicio para retomar los análisis más exhaustivos desarrollados en la presente investigación.

Badii, Castillo, Rodríguez, Wong y Villalpando, 2007, en su trabajo de investigación nombrado: Diseños experimentales e investigación científica, destacan que el diseño experimental es un esquema de cómo realizar un experimento. El objetivo fundamental de los diseños experimentales radica en el determinar si existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos del experimento y en caso

que la respuesta sea afirmativa, cuál sería la magnitud de esta diferencia. Una segunda meta de los diseños experimentales es verificar la existencia de una tendencia derivada del análisis de los datos del experimento. La diferencia principal entre los diseños experimentales radica en la forma en que se agrupan o clasifican las unidades experimentales. En todos los diseños las unidades experimentales se clasifican por tratamientos; pero en algunos, estos se clasifican preferentemente en bloques, filas, parcelas principales y otras modalidades. Este trabajo contextualizó al investigador en la teoría sobre la planeación, análisis, realización e interpretación de los diseños de experimentos.

Bases teóricas

Cuando se hace alusión a la calidad de semillas, no hay consenso en el uso de un único concepto; sin embargo, los sistemas de producción de semillas, buscan suplir las necesidades de los productores agrícolas en relación con la aptitud de éstas para sembrarse.

La industria semillera, considera que la calidad de la semilla es un concepto amplio y que está en constante construcción. Este, relaciona un conjunto de características deseables, que comprenden distintos atributos, referidos a la aptitud de tal material biológico para sembrarse y producir alimentos. Al evaluar la calidad de la semilla, se consideran la mayor parte de atributos deseables, entre los que destacan cuatro componentes agronómicos: el físico (humedad, pureza física y peso específico), el fisiológico (vigor y germinación), el fitosanitario (salud de semilla) y el genético (pureza varietal e identidad genética).

De acuerdo con Montgomery (2004), existen ocho dimensiones de la calidad industrial (desempeño, confiabilidad, durabilidad, facilidad de servicio, estética, características incluidas, características percibidas y conformidad), las cuales facilitan la comprensión del aseguramiento de la calidad total, en términos de que la misma se encuentre en los niveles nominales requeridos.

Los componentes de la calidad de semillas, tienen relación directa con la calidad industrial. El componente físico se relaciona con las dimensiones

característica, estética, percibida y durabilidad, las cuales se asocian con la preferencia del usuario debido a lo atractivo del producto tales como el color, brillo, inexistencia de daños mecánicos por plagas o enfermedades, fracturas, cuarteos, ausencia de contaminantes tales como materia inerte, semillas de malezas, formas reproductivas de plagas y enfermedades, entre otras. Para estudiar en términos industriales la calidad física, se recurren a las pruebas de humedad, pureza física y peso específico.

Por su parte, los aspectos fisiológicos están asociados con la capacidad que tiene la semilla de producir una nueva planta vigorosa en un tiempo determinado, lo cual tiene relación directa con las dimensiones industriales de confiabilidad (posibilidad de que la semilla realice su función determinada, de acuerdo con las condiciones de operación, dentro de un período de tiempo definido) y conformidad (grado con el que la semilla es producida con respecto a lo que se requiere).

En una semilla, es obligatorio que las características funcionales deban cumplirse, esto debido a que, si no cumple con uno de los estándares de calidad en alguno de sus componentes, la calidad general se ve comprometida y por ende no se podría asegurar que el material cumpla con su función, por lo que se ve afectada la dimensión de desempeño.

La semilla cuando alcanza su madurez fisiológica inicia un proceso natural de deterioro, el cual debe minimizarse. Por ello, las prácticas de manejo postcosecha son fundamentales, ya que éstas permiten ajustar, más no mejorar, las condiciones de calidad establecidas por los organismos nacionales e internacionales.

Posterior a la cosecha, se deben llevar a cabo estrictas actividades de control de calidad, para evitar que el material que no cumple con los requisitos requeridos pase a las siguientes etapas del proceso. También es importante destacar, que las operaciones de acondicionamiento posteriores a la cosecha no aumentan la calidad de campo, pero si permiten ajustar algunas características para que el material vegetal pueda mantenerse durante el almacenamiento lo mejor posible.

La sanidad de semillas, está influenciada por las condiciones climáticas, el manejo y la presencia del inóculo. Los patógenos son causantes del deterioro de la capacidad germinativa de la semilla y la producción de plántulas enfermas que no llegan a la etapa adulta en campo. Este componente es evaluado de forma general en el ámbito industrial; aunque si las empresas o los usuarios requieren mayores detalles para su estudio, recurren al uso de servicios externos especializados que realizan las diferentes evaluaciones como lo describe la Norma ISTA en sus diferentes versiones, debido a que es obligatorio cumplir con algunos requisitos, de acuerdo a la legislación agrícola nacional.

Por otra parte, el componente genético determina la identidad de las semillas de una variedad, lo que permite hacer la comparación con las características de la variedad liberada y descrita por el genetista. Asimismo, en la práctica, este componente es evaluado por la industria mediante la contratación de laboratorios que cuentan con personal y equipos especializados, quienes verifican la pureza varietal y la identidad del material. Es importante dejar claro, que la pureza varietal es la característica que garantiza la homogeneidad comercial del producto, por lo que se espera que las plantas posean las mismas características morfológicas, de producción y ciclo de cultivo; así como de resistencia y/o tolerancia a condiciones desfavorables bióticas y abióticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo evaluativa, ya que permitió demostrar los efectos del acondicionamiento y almacenamiento sobre la semilla común de caraota (Hurtado, 2012). Se desarrollaron una serie de acciones de evaluación directas de los sistemas artesanal e industrial, en las que se determinó como las operaciones aplicadas en cada lote, afectan la salud, la pureza varietal y la identidad genética de la semilla.

Nivel de la investigación

El nivel de investigación fue evaluativo, ya que contempló las acciones para la valoración del acondicionamiento y almacenamiento de los sistemas artesanal e industrial, y su influencia sobre la calidad de la semilla de caraota, en términos genéticos y de salud. Se estudiaron dos unidades de análisis, las cuales correspondieron a los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento artesanal e industrial de la semilla común de caraota. La Unidad de Producción Finca Valle Hermoso obtuvo en 2021, 2200 kg de semilla, la cual destinó como material de propagación para el siguiente ciclo de producción (2022). Dicho lote fue dividido en dos partes iguales. El lote artesanal fue procesado en las instalaciones de la propia unidad de producción, mientras que el lote industrial se envió a Prosevenca.

Diseño de la investigación

Estuvo enmarcada en un diseño de campo no experimental, dado que la recolección de los datos se hizo directamente de la realidad donde ocurrieron los hechos, sin realizar modificación de variables. En relación con el tiempo, la presente investigación fue de tipo transeccional contemporánea, ya que el evento de estudio ocurrió en el presente. Por último, en cuanto a la amplitud de foco, es un diseño unieventual ya que se centró en el estudio de un único evento.

Fases metodológicas

Descripción de los procesos en los sistemas

En esta fase el investigador accedió al área de procesamiento de semilla de los sistemas artesanal e industrial, por lo cual asistió a la unidad de producción Valle Hermoso. Por otra parte, se realizaron visitas a la planta procesadora Prosevenca, en Turmero, estado Aragua.

En cada uno de los lugares antes señalados, mediante la observación directa se pudo conocer las operaciones que componen los procesos de acondicionamiento y almacenamiento de la semilla común de caraota, además de todas las características pertenecientes a dichos procesos, tales como: equipos que lo conforman, insumos, secuencias del proceso, entre otros. Posteriormente, se revisó la información disponible en libros y revistas especializadas, lo que permitió tener una visión más amplia sobre las operaciones y sus procedimientos asociados con la producción de semillas en cada uno de ellos.

Los resultados, se presentan en forma de una descripción esquematizada, que permitió hacer la comparación de ambos sistemas, en términos de operaciones ejecutadas y como estas contribuyen al aseguramiento de la calidad del material vegetal.

Análisis de los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento

Identificación verbal del material y su muestreo

El material vegetal fue identificado por el agricultor como cultivar Magdaleno, el cual provino de una pequeña unidad de producción ubicada en San Joaquín, estado Carabobo, Venezuela, producidas en el ciclo norte verano 2021/2022, momento en el que se obtuvo como material de propagación 2200 kg, que se destinó para el siguiente ciclo de producción.

La masa total fue dividida en partes iguales y envasadas en sacos de 25 kg. En cada lote se obtuvieron 44 sacos de semillas. De cada lote, se seleccionaron cinco muestras compuestas de tres kilogramos (cada una provino de la selección aleatoria de 15 sacos, siempre distintos, de los que se extrajeron 200 gramos de semilla). Detalles adicionales de la metodología de muestreo, pueden consultarse en Díaz et al. (2024).

De cada muestra compuesta, se destinaron 400 gramos para realizar las pruebas de salud y 200 gramos para los ensayos de pureza varietal e identidad genética. Las pruebas de salud, se realizaron en la Clínica de Enfermedades de Plantas del Instituto de Botánica Agrícola, mientras que las de pureza varietal e identidad genética se desarrollaron en el Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA), ambas instancias adscritas a la Facultad de Agronomía, de la Universidad Central de Venezuela.

Variables respuestas analizadas

En el caso de salud, se determinó el porcentaje de semillas afectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* (de carácter no paramétrico) y *Aspergillus* spp (de tipo paramétrico). Para conocer la identidad del cultivar y la pureza genética, se utilizaron las pruebas isoenzimáticas en las que se emplearon los sistemas alfa y beta esterasa y peroxidasa, obteniendo como respuesta una variable dicotómica (presencia o ausencia de la banda en el gel de poliacrilamida).

Experimentos

Salud de semillas

De cada muestra de 400 gramos, se tomaron tres observaciones, realizando una selección aleatoria de 375 semillas por cada sistema, para detectar la incidencia porcentual de los patógenos ya mencionados, aplicando el método del papel secante (*blotter test*) (ISTA, 2016). Todos los materiales fueron esterilizados, siguiendo los protocolos estandarizados en el laboratorio.

En placas de Petri plásticas, de 12 cm de diámetro, fueron colocadas dos láminas de papel secante cortados en forma de discos, luego se agregaron 10 mL de agua destilada estéril, para posteriormente ubicar de forma equidistantes 25 semillas. En total, se usaron 15 cápsulas por sistema, las cuales se taparon y se llevaron a cámara húmeda por 24 horas.

Posteriormente, las placas se transportaron en bolsas plásticas, a un congelador de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, con la finalidad de inhibir el crecimiento de la radícula, detener la germinación y evitar contaminación cruzada entre las semillas. Luego, se llevaron a cámara húmeda, previamente desinfectada con alcohol al 70 % v/v, en la que se dejaron incubar durante cinco días a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 70 % – 75 % de humedad relativa.

Transcurrido dicho tiempo, se observaron bajo la lupa estereoscópica las características de cada tipo de crecimiento fúngico. Se cuantificó el porcentaje de semillas infectadas para cada especie. Para las identificaciones a nivel de género, se siguieron los criterios taxonómicos descritos por Ellis (1971), Nelson *et al.*, (1983) y Sutton (1980), con base en las estructuras reproductivas observadas con la lupa y el microscopio a 40X, usando colorantes vegetales como medio de montaje (González *et al.*, 2011). Los resultados se presentaron en micrografías.

Pruebas estadísticas para la salud de semillas

Se presentaron los resultados iniciales aplicando estadística descriptiva, en la que se muestran gráficos de caja³. Desde el punto de vista analítico, se aplicó la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney de dos colas, dada la naturaleza de la variable respuesta (incidencia), y el hecho de que los datos fueron tomados de manera independiente y aleatorizados, además de no cumplirse el supuesto de normalidad (p – valor < 0.05), aunque si se corroboró el supuesto de homogeneidad de varianzas (p – valor > 0.05). Dicha prueba, permitió comparar el rango medio de los dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento, para así poder indicar si existían diferencias estadísticamente significativas al 5%, entre ellas.

³ Gráfico que permite evaluar y comparar la forma, la tendencia central y la variabilidad de las distribuciones de la muestra, y para buscar valores atípicos.

Las hipótesis probadas fueron:

Hipótesis nula (H_0): no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los sistemas analizados,

Hipótesis alternativa (H_a): existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los sistemas analizados.

Para la incidencia de *Aspergillus* spp. se demostró el cumplimiento del supuesto de normalidad (p – valor > 0.05), de independencia, aleatoriedad y de homogeneidad de varianzas (p – valor > 0.05), razón por la que se aplicó la prueba *t* de *student*, para determinar la diferencia de las medias de dos poblaciones independientes, de muestras pequeñas y con varianzas desconocidas, aunque se asume que éstas son iguales (Hines y Montgomery, 1996; Montgomery y Runger, 2003; Montgomery, 2019).

Las hipótesis probadas fueron:

Hipótesis nula (H_0): no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los sistemas analizados,

Hipótesis alternativa (H_a): existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los sistemas analizados.

Para todos los casos, se aplicó como regla de decisión que si el p valor de la prueba era menor que el nivel de significancia ($\alpha = 0.05$), se declararon diferencias estadísticamente significativas entre los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento. Los análisis se realizaron *in silico*, usando el paquete estadístico Minitab® v. 2019 y los resultados se presentaron en tablas de doble entrada.

Pureza varietal e identidad genética

Para esta experiencia, fueron elegidas aleatoriamente tres de las cinco muestras compuestas por cada lote, siendo estas los materiales problema a las que se les quería demostrar la pureza varietal, además se utilizaron dos materiales de referencia para determinar la identidad genética: el cultivar 'Magdaleno' y el cultivar 'UCV Manuare', donados por el CIBA.

Antes de desarrollar el procedimiento molecular, se sembraron durante siete días y bajo condiciones estándares de laboratorio, 25 semillas de cada uno de los materiales de referencia y 120 semillas de cada uno de los materiales problemas, todos separados e identificados en sus cámaras de siembra. De dichas plántulas, se obtuvieron los macerados de tejidos para los estudios subsiguientes.

La técnica de laboratorio aplicada fue la electroforesis de isoenzimas, en la que se situó un macerado de tejido de las plantas, sobre un soporte (en este caso gel de poliacrilamida), para luego someterlo a un campo eléctrico durante varias horas, hasta lograr la separación de las enzimas debido al efecto de sus cargas eléctricas. Para tal fin, se debieron preparar una serie de soluciones, que se detallan en el Cuadro 1.

Los sistemas enzimáticos usados fueron alfa y beta esterasa y peroxidasa, y las especificaciones para su obtención, se indican en el Cuadro 2. Finalmente, en el Cuadro 3, se describen las soluciones usadas para la elaboración de los geles de poliacrilamida.

Experimentalmente, es importante destacar que luego de servir los geles en sus respectivos moldes, se debió agregar agua destilada para evitar resequedades en el gel, y la electroforesis se realizara de forma continua. Este procedimiento se realizó de manera constante si se evaporaba dicha agua.

En relación con la preparación de las muestras para la electroforesis, se pesaron en una balanza, 10 g de plántulas de caraota seleccionadas aleatoriamente. Cada muestra fue colocada en morteros fríos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a las que se les agregó 5 mL de tampón de extracción. Se maceró vigorosa y rápidamente para evitar que las

muestras llegaran a temperatura ambiente. En ocho viales de 1000 µL previamente identificados, se colocaron 500 µL de la solución macerada.

Para la electroforesis, se tomaron 20 µL de solución macerada a la que se le agregaron 2 µL de azul de bromofenol (diluido en glicerol), y se colocaron en cada pocito de siembra del gel. Se realizó la electroforesis, ubicando la cámara en la nevera. En la fuente de poder se fijaron las condiciones en 40 A y 100 V, y se realizó la electroforesis hasta que el frente de corrida llegase al final del gel.

Cuadro 1

Soluciones empleadas en los estudios isoenzimáticos.

Solución	Constitución
Tampón de extracción (solución empleada para todas las isoenzimas).	0,5 g de glutatión a 4 °C. 5 mL de Tris 0,1M pH 8. 40 mL de ADE. Enrasar a 50 mL. Equilibrar a pH 7,8 con NaOH 1M. Es importante que esta solución no exceda del pH 7,8. Si ello sucediera se debe desechar, ya que, al tratar de equilibrar el pH con HCl, se daña la solución y no se obtendrán buenos resultados en el revelado. Rotular y guardar a 4 °C.
Soluciones para geles	
Acilamida al 30%	30 g de acilamida. 0,8 g de bis-acilamida n`n methyl. 60 mL de ADE. Llevar a volumen final de 100 mL. Rotular y guardar a 4 °C.
Tris HCl pH 6,8	4,5 g de tris base. 40 mL de ADE. Ajustar pH a 6,8 con HCl al 37% (presentación directa de la casa comercial). Calibrar volumen final a 50 mL. Rotular y guardar a 4 °C.
Tris HCl pH 8,8	27,3 g de tris base. 80 mL de ADE. Ajustar pH a 8,8 con HCl al 37% (presentación directa de la casa comercial). Calibrar volumen final a 100 mL. Rotular y guardar a 4 °C.
Soluciones de revelación	
Tampón fosfato	11,2 g de fosfato de sodio monobásico (NaH ₂ PO ₄) en 600 mL de ADE. 2,6 g de fosfato disódico (Na ₂ HPO ₄) en 200 mL de ADE. Unir muy lentamente ambas soluciones. Medir pH, el cual debe ser 6,3. En caso de que no sea este el pH, este no se puede ajustar. Rotular y guardar a 4 °C.

Cuadro 2

Soluciones isoenzimáticas empleadas.

Isoenzima	Nomenclatura	Constitución
α esterasa	EC 3.1.1.1.1	25 mg de <i>fastblue</i> RR® (refrigerado a – 20 °C). Diluir en 50 mL de tampón fosfato pH 6,3. Añadirlo al gel y luego agregar 1 mL de solución diluida de α nalphtyl acetato (previamente hay que diluir 10 mg de α nalphtyl acetato en 1 mL de acetona pura).

β esterasa	EC 3.1.1.1.2	25 mg de <i>fastblue</i> RR® (refrigerado a – 20 °C). Diluir en 50 mL de tampón fosfato pH 6,3. Añadirlo al gel y luego agregar 1 mL de solución diluida de β nalphtyl acetato (previamente hay que diluir 10 mg de β nalphtyl acetato en 1 mL de acetona pura).
Peroxidasa	1.11.1.7	50 mL de acetato de sodio 0,2 M pH 5. 50 mg de cloruro de calcio (CaCl ₂). 250 μ L de peróxido de hidrogeno (H ₂ O ₂) al 3%. 25 mL de carbazole. 2 mL de n`n dimethyl formamide (diluir el carbazole y la n`n dimethyl formamide).
Solución de electroforesis		
Tris glicina (1M)		3 g de tris base y diluir en 200 mL de ADE. 14,4 g de glicina en 600 mL de ADE.

Cuadro 3

Soluciones para la preparación gel de acrilamida.

Soluciones	Gel	
	10%	6%
Acrilamida	3,33 mL	1 mL
Glicerol	1,16 mL	-----
Tris HCL pH 8,8	1,67 mL	-----
Tris HCL pH 6,8	-----	0,84 mL
Agua	3,84 mL	3,17 mL
Temed	20 μ L	5 μ L
Persulfato de amonio (PSA)	50 μ L	25 μ L
Volumen final	10,00 mL	4 mL

Finalizada la electroforesis, se retiraron los geles con cuidado y se colocaron en bandejas, donde se les agregó la solución de revelación, de acuerdo con cada sistema enzimático. Las bandejas se incubaron a 37 °C, hasta que se lograron visualizar las bandas. Se lavaron los geles con una solución de fijación. Se llevaron al transiluminador y se procedió a fotografiar el resultado final.

Pruebas estadísticas para la pureza varietal e identidad genética

La interpretación de los resultados, se realizó de forma cualitativa⁴, en la que se desarrolló una matriz de código binario de bandas (datos dicotómicos, o de doble

⁴ Son variable de tipo nominal (denotan cualidad). A estas variables, se les asigna un nombre, sin que el mismo indique jerarquía. Ejemplo: el color, presencia o ausencia de “algo”, entre otras. En contraste, las variables cualitativas ordinales, son aquellas a las que se les asigna un nombre, pero el mismo guarda jerarquía entre un término y otro. Ejemplo: la calidad de un producto, como excelente, bueno, regular, deficiente, malo.

estado) (0 ausente y 1 presente). A partir de esta información se establecieron los patrones electroforéticos para los materiales de referencia y las muestras problema, siendo éstas las unidades de caracterización.

Estadísticamente, se aplicó el método multivariado para la determinación de la distancia de Jaccard (agrupamientos por clúster), lo cual permitió obtener un gráfico de árbol o dendograma, en el que se presentaron de manera resumida la similitud entre las unidades básicas de caracterización, tal como lo señalan Núñez y Escobedo (2011). Los datos se analizaron utilizando el programa Infostat® v. 2020.

Comparación del efecto de los sistemas

Se contrastaron los resultados obtenidos en las pruebas de calidad realizadas a los lotes de semilla común de caraota, provenientes de las operaciones de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento. Las cualidades de los lotes, se presentaron mediante explicaciones, las cuales permitieron visualizar la calidad de semilla en ambos sistemas, teniendo, además, como valor referencial los estándares de calidad establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2006) para semillas de leguminosas. Toda esta información sirvió, para llevar a cabo un examen crítico de la efectividad de las operaciones de un sistema con respecto al otro, determinando así, el efecto que tienen los procesos y el manejo realizado en los sistemas sobre la calidad de la semilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de los procesos en los sistemas

Sistema Artesanal

Secado en campo

La semilla antes de ser cosechada se deja secar en campo de forma natural, siendo un proceso que depende directamente de las condiciones climáticas. Esta operación es llevada a cabo de forma tradicional, por los agricultores, hasta que el productor considere que se encuentre suficientemente seco para ser almacenado como semilla común.

La FAO (2005), que señala que el secado es una de las actividades fundamentales para la producción artesanal de semilla de caraota, especificando que la semilla debe extenderse sobre una superficie lisa, limpia y expuestas al sol y donde deben voltearse frecuentemente hasta alcanzar una humedad de 12 a 13%, se destaca que el agricultor no ejecuta dicha actividad de esa manera.

Cosecha, desgrane y pre-limpieza

Luego que las plantas se encuentran secas, se procede a la cosecha y desgrane. Estas, son llevadas a cabo a través de un proceso semi-mecanizado de la misma manera para ambos lotes de semilla (artesanal e industrial), con una trilladora automotriz modelo Double Master 11F, de la marca MIAC®, la cual es capaz de cosechar desde 1,2 hasta a 1,5 ha.h⁻¹.

Esta máquina, posee un sistema de flujo axial de bajo impacto, con el cual se separan las semillas de las vainas, además de que se puede regular la intensidad y el tiempo de este proceso. Consta con un sistema de limpieza de cribas vibratorias y una turbina que funciona por succión, lo que proporciona una calidad superior en las semillas recolectadas. Esta posee un depósito donde se transporta el material, y se

descarga inclinando el tanque, evitando así el daño mecánico que ocasionaría otro sistema.

León et al. (2008), exponen que es de vital importancia ajustar y regular la máquina, de lo contrario se obtendrán una semilla de mala calidad física (semillas partidas), además de que el exceso de golpes a las semillas disminuye la capacidad germinativa y su vigor.

Selección del lote

En este proceso, el productor toma en cuenta factores como el tamaño de la semilla, color, peso y pureza, que no contenga materia inerte o cualesquiera otros materiales considerados contaminantes ni semillas que se vean afectadas por patógenos o insectos. En este caso, se pudo observar que el productor tomó muestras en los diferentes lotes cosechados y seleccionó el que mejores condiciones estéticas poseía.

Pesaje y envasado

En el proceso de envasado, se usó una tolva para cargar el material a granel, que luego fue dosificado en sacos de 50 kg. Dicha máquina es operada de manera manual, mediante una palanca, con la que el operario controla el flujo de las semillas que desciende al interior de los sacos, mejorando la precisión en el proceso de pesaje. Debajo de la tolva, se colocó la báscula, la cual permitió controlar la masa de los sacos.

Tratamiento químico y sellado

Los sacos llenos, fueron trasladados abiertos a la zona de almacenamiento, en la que se introdujo, con la ayuda de un tubo, una pastilla de fosforo de aluminio (AIP), esto con el fin de proteger las semillas contra insectos nocivos. Posteriormente, se selló el saco. Cabe destacar, que a pesar de las recomendaciones de la FAO (2005), de hacer tratamiento con fungicidas, esta labor no es realizada en el sistema artesanal.

Almacenamiento

Las semillas envasadas y tratadas, fueron almacenadas, se resguardaron en un galpón, durante nueve (09) meses, hasta el próximo período de siembra. Los sacos son dispuestos en paletas de madera, haciendo una pila de veinte (20) sacos. Cada piso es de cinco (05) sacos debidamente organizados.

Sistema Industrial

Recepción

En este proceso, se recibe la semilla a granel. A medida que se fue descargando el lote, se seleccionaron de forma aleatoria cinco muestras simples de 600 g. Con estas, se hizo el análisis del contenido de humedad y desarrollar las pruebas de germinación.

La determinación del contenido de humedad es fundamental, ya que, dependiendo de lo detectado, se programa el proceso de secado. Es importante señalar que, para caraota, lo requerido por norma es que el lote posea una humedad menor a 13%, de lo contrario, se deberá secar. En caso de que la humedad se encuentre debajo del valor indicado, esta pasa directamente al proceso de limpieza. Una correcta humedad, permite conservar mejor el material, ralentizando el metabolismo de las semillas, permitiendo que estas puedan ser almacenadas en un ambiente controlado sin efectos contraproducentes durante al menos un año.

Secado

La empresa realiza este proceso de forma natural para lotes pequeños (menores a 10 toneladas). La semilla se colocó en un lugar ventilado, en las que se extendieron en capas no mayores de cinco (5) cm, sobre una superficie de cemento de 100 m², libre de material inerte y de otras semillas. Estas, se removían empleando un rastrillo con puntas achatadas, dos (2) veces al día (mañana y tarde). Se hicieron análisis de humedad a diarios, con la ayuda de un determinador de humedad automático. El

proceso finalizó cuando se logró el contenido de humedad requerido por la norma específica que rige la materia.

Limpieza

La limpieza fue realizada en una cribadora de precisión, marca Crippen, modelo Century 688®, la cual tiene la capacidad de limpiar hasta 15 toneladas métricas por hora. Esta máquina posee un diseño eficaz para la separación de las impurezas que acompañan a la semilla, y realizan el proceso con una alta precisión. La máquina, realiza una pre – aspiración, luego el material pasa por tres (3) cribas, en donde los patrones de flujo de aire se ajustan fácilmente. La primera (superior), es la que elimina los contaminantes de mayor tamaño y a medida que la semilla desciende por las cribas subsiguientes se van eliminando materiales medianos, hasta que llegan a la inferior la cual extrae la basura pequeña. En la aspiración final se realizará una separación de la basura de densidad ligera. Esta máquina cuenta con una agitación de velocidad variable y tubos de descarga de limpieza automática.

Separación densimétrica

Las semillas limpias y homogeneizadas son separadas por peso específico, en una mesa de gravedad fabricada por Oliver MFG®. Este proceso es de suma importancia ya que separa las semillas vanas, las que han sido dañadas por insectos, además de retirar terrones y piedras, lo que le da una mejor apariencia física al lote. La mesa de gravedad, es donde es llevada a cabo la separación por peso específico, y es una de las máquinas más populares y efectivas en la industria semillera, pero a la vez es una de las más difíciles de operar, por falta de buena capacitación de los operarios.

Es importante destacar que, los secadores, la limpiadora y la mesa de gravedad, terminan su proceso descargando las semillas a una tolva conectada a un elevador de cangilones que transporta el material al proceso subsiguiente. En Prosevenca, se utiliza una banda transportadora con un ángulo de 45° sobre la horizontal, con una banda con perfiles o empujadores, los cuales evitan el retroceso o caída de la semilla,

Envasado y tratamiento químico

Este proceso, es realizado en una báscula-ensamadora semiautomática, marca Bega® que posee una precisión de ± 100 g, es muy sencilla de manejar, además de ser una de las más utilizadas en la industria semillera. La máquina, se encuentra conectada a la salida del tubo de descarga de la tolva de compensación. El saco se coloca en la boquilla de la báscula y al abrirse la compuerta, se llena con el peso exacto que el operador fijó previamente. Estas realizan la dosificación de un saco a la vez. El sellado, se hizo con un sellador térmico, en sacos de 25 kg. Previo al cierre de los sacos, se hizo el tratamiento con fosforo de aluminio.

Almacenamiento

Las semillas en sacos, son transportadas en paletas de madera, hasta una cava refrigerada que mantiene temperaturas que van desde los 5 °C hasta 10°C y a una humedad relativa de aproximadamente 60%, durante nueve (09) meses.

Análisis de los sistemas de acondicionamiento y almacenamiento

Experimento de salud

A nivel de microscopía, se logró determinar las estructuras fúngicas de *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli* (Figura 1a) y *Aspergillus* spp (Figura 1b). Por tanto, se señala que la micobiota detectada en el presente estudio, es similar a la reportada para el cultivo de caraota en otras investigaciones. Cabe señalar que, dado el tipo de manejo en campo, las semillas de caraota tuvieron un inadecuado almacenamiento (altas temperaturas, sobreexposición a la radiación solar y sin control de humedad) y bióticos como daños por insectos, hongos y bacterias.

El patógeno *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, fue observado en los lotes de semillas artesanal e industrial, con incidencias de 54.15 % \pm 2.69 % y 21.37 % \pm 2.13 %, respectivamente (Figura 2). Estadísticamente, se lograron determinar diferencias significativas entre sistemas (p valor <0.0001) (Cuadro 4). Groenewold et al. (2003), señala que incidencias entre 0 a 10% pueden ser consideradas bajas, entre 11 a 30% en la categoría de incidencia intermedia, y valores superiores a 31% como incidencia

elevada; por tanto, los resultados obtenidos en este experimento evidencian que la incidencia a nivel de campo es alta. Tales resultados concuerdan con los obtenidos por los autores ya señalados, quienes detectaron la incidencia *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, con valores superiores al 40%, en campos mexicanos. A nivel industrial se determinó una incidencia intermedia ($21.37 \% \pm 2.13 \%$). Tales resultados, se deben a la forma de almacenamiento en cada uno de los sistemas.

Figura 1

Micrografía (40X) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* (a) y *Aspergillus* spp (b).

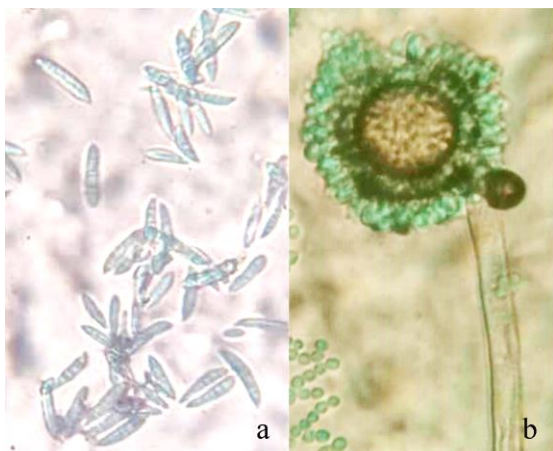
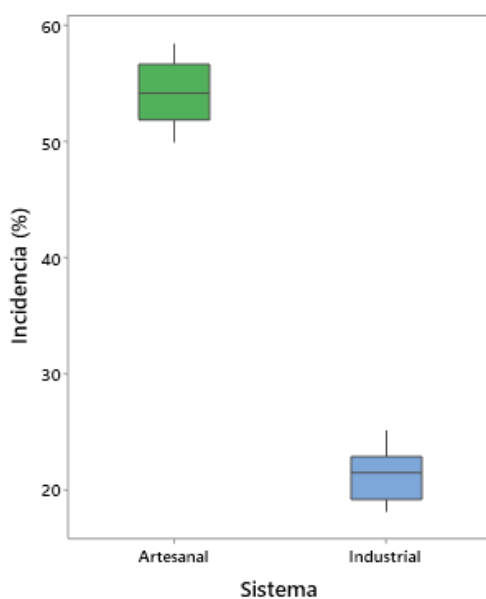


Figura 2

Gráfica de caja para la incidencia de *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli* en semilla común de caraota bajo dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento.



Cuadro 4

Resultados de la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney para la incidencia de *F. oxysporum f. sp. Phaseoli* en semilla común de caraota bajo dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento.

	Sistema	
	Artesanal	Industrial
Media	54.15	21.37
Desviación estándar	2.69	2.13
Observaciones	15.00	
Grados de libertad	28.00	
Estadístico U	345.00	
P valor (dos colas)	<0.0001	
Valor crítico de U (dos colas)	116	

En relación con *Aspergillus* spp, se logró observar la cabeza conidial característica del género, pudiendo corresponderse con las especies *A. flavus* Link, *A. niger* Van Tieghem, *A. oryzae* (Ahlburg), *A. ochraceus* Wilhelm, *A. terreus* Thom, *A. candidus* Link o *A. versicolor* (Vuill.) Tira Boschi, según los resultados sugeridos por Escalona et al. (2017). *Aspergillus* spp, es un moho toxigénico frecuentemente observados en granos de caraotas que han estado almacenados en cavas.

Las mismas fueron observadas en mayor incidencia en el sistema industrial (7.33 % \pm 0.58 %), que en el artesanal (3.01 % \pm 0.80 %) (Figura 3), y detectándose diferencias estadísticamente significativas entre los lotes (p valor < 0.0001) (Cuadro 5). Es importante destacar que incidencias menores a 15% son consideradas baja, según los criterios de evaluación sugeridos por Mazzani (1998).

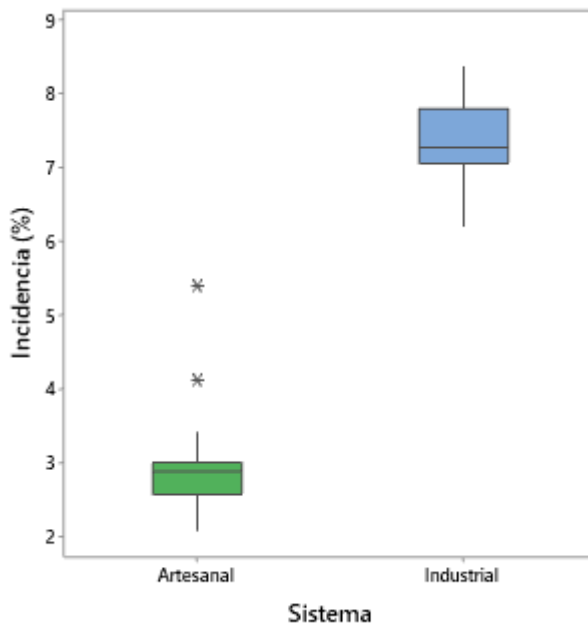
Es importante señalar que la presencia de especies del género *Aspergillus* son de especial interés, ya que en éste se ubican la mayoría de los mohos con capacidad de sintetizar micotoxinas (Escalona et al., 2017). La presencia de *Aspergillus* spp, se debe a un mal manejo integrado de los granos y semillas a nivel industrial, malas condiciones de almacenamiento, transporte inadecuado y la presencia de insectos que sirven como medio de transporte para microorganismos (Escalona et al., 2017).

También, es importante destacar que el material vegetal objeto de estudio, se usa bajo la modalidad “doble propósito”, como grano para la venta a granel y como

semilla, razón por la cual resulta pertinente profundizar a futuro este resultado, ya que este tipo de hongos alteran la composición nutricional y comercial del grano y ponen en riesgo la salud de los consumidores. De lo que no hay duda, es que la caraota, es un excelente sustrato para el crecimiento de mohos, y que el sistema industrial provee mejores condiciones para su proliferación.

Figura 3

*Gráfico de caja para la incidencia de *Aspergillus spp*, en semilla común de caraota bajo dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento.*



Cuadro 5

*Resultados de la prueba t de student para la incidencia de *Aspergillus spp*, en semilla común de caraota bajo dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento.*

	Sistema	
	Artesanal	Industrial
Media	3.01	7.33
Desviación estándar	0.80	0.58
Observaciones	15.00	
Varianza agrupada	0.50	
Diferencia hipotética de las medias	0.00	
Grados de libertad	28.00	
Estadístico t	-16.72	
P valor (una cola)	< 0.0001	
Valor crítico de t (una cola)	1.70	

Experimento de pureza varietal e identidad genética

La pureza e identidad, son elementos fundamentales que debe ostentar una semilla de alta calidad. La misma se interpreta como la correcta proximidad genética entre los miembros que conformarán a la futura población de campo (FAO, 2019). En otro orden de ideas, estas determinaciones no son comunes de aplicar, sobre todo en las semillas locales y comunes (Araya et al., 2010; ISTA. 2016). De lo que no hay duda, es que poseer un material correctamente identificado en términos genéticos, da garantía de partida de que la respuesta del potencial biológico de la planta se alinee con la producción en campo, lo que podría representar el éxito de una correcta producción de alimentos.

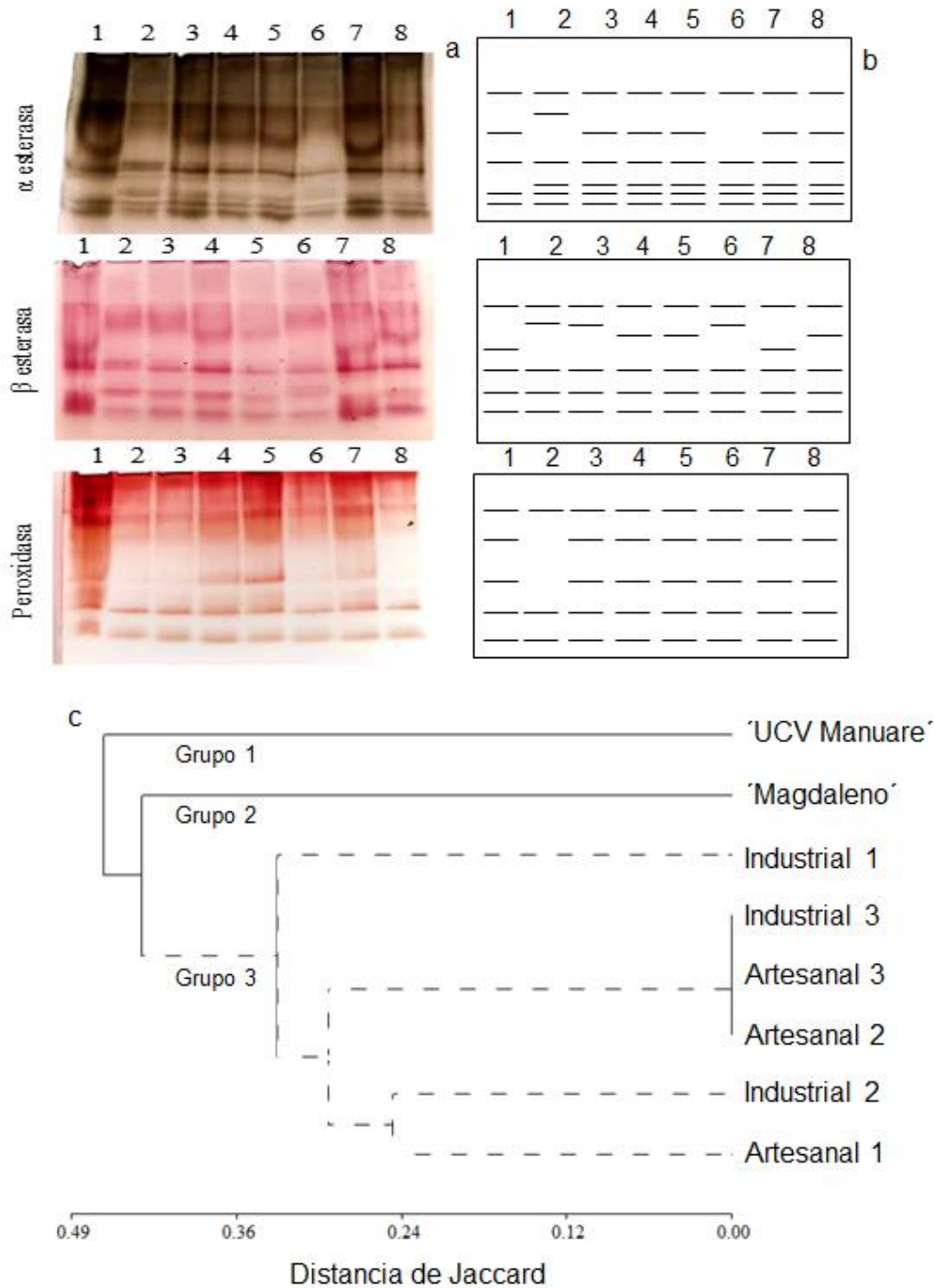
En relación con los resultados obtenidos en el presente estudio, se destaca que, de los tres sistemas enzimáticos estudiados, α y β esterasas fueron los que mostraron mayor polimorfismo en el revelado de las bandas (Figura 4, secciones a y b). Resultados similares fueron reportados por Salazar et al. (2011), para aislados del hongo *Trichoderma* spp.

Con respecto al análisis de agrupamiento, utilizando como distancia métrica el índice de similitud de Jaccard, en la Figura 4, sección c, se observa que se establecieron claramente tres grupos, el primero conformado por el cultivar 'UCV Manuare', el segundo por el cultivar 'Magdaleno' y el tercero por las muestras problemas (artesanal 1, 2 y 3 e industrial 1, 2 y 3), de lo que se desprende que en las unidades básicas de caracterización se determinó una constitución isoenzimática similar, mezcladas entre sí, que no guardan relación alguna con los materiales de referencia usados en el experimento.

Es evidente que los grupos determinados en el dendograma, sugieren que la población de semilla común de cañotea existente en la unidad de producción es heterogénea desde el punto de vista isoenzimático, lo cual muy probablemente está ligado a segregaciones morfológicas y genética de naturaleza más profunda, motivo que conlleva a señalar que no se logró determinar la pureza varietal y la identidad genética del cultivar objeto de estudio.

Figura 4

Patrones de bandas de la electroforesis en geles de poliacrilamida, usando tres sistemas isoenzimáticos en semilla común de caraota.



Leyenda: geles (a), digitalización de las bandas (b) y dendrograma de Jaccard mostrando las agrupaciones de los materiales evaluados. Carriles en los geles: 1) Cultivar 'Magdaleno', 2) Cultivar 'UCV Manuare', 3 al 5: lote artesanal (muestras 1, 2 y 3) y 6 al 8: lote industrial (muestras 1, 2 y 3).

Dicho resultado puede deberse a tres posibles eventos, el primero, que el agricultor haya realizado un intercambio deliberado de semillas, lo cual es una

práctica frecuente en pequeñas unidades de producción; el segundo es que el material se haya sometido a muchos ciclos de multiplicación, lo que resulta en un aumento de la contaminación, cruce y variabilidad en la población; en este aspecto, la FAO (2019), señala que los agricultores deben restringir el número de generaciones en su material de propagación, para evitar esas situaciones de esta naturaleza. El tercero, es que haya contaminación física o mecánica debido a un manejo inadecuado durante las labores de campo, cosecha, procesamiento y almacenamiento.

Es evidente que, los problemas de identidad y pureza, normalmente provienen inicialmente desde el campo, y que este puede agravarse a nivel industrial, si se procesan otros lotes del mismo cultivo, con identidades diferentes, siempre que las labores de limpieza de las maquinarias sean realizadas de manera incorrecta, de allí, que en el ámbito industrial las operaciones de limpieza deben realizarse de manera estricta, sobre todo en semillas de categoría diferentes a la común.

Comparación del efecto de los sistemas

En el sistema artesanal no se lleva un control del contenido de humedad de las semillas. Para este caso, el productor se basa en sus conocimientos y experticia para llevar a cabo la extracción y desgrane del material cuando, según él, el material se encuentra suficientemente seco. Este es el principal factor que influye en la calidad a la hora de almacenar el material, ya que para obtener un almacenamiento eficiente los productores deben asegurar un contenido de humedad bajo que minimice tanto el metabolismo, como el desarrollo de microorganismos e insectos nocivos.

En el sistema industrial, al momento de recibir el material determinan el contenido de humedad, y si el mismo se encuentra por encima de los valores recomendables, se traslada el lote al área de secado natural, hasta que disminuya el contenido a un valor aceptable y el material pueda continuar con el proceso. En esta operación, la organización hace un control diario de la humedad, y detiene este proceso en el momento en que el lote de semillas alcanza el 13% establecido por el sistema de semillas de calidad declarada de la FAO (2006).

El sistema artesanal lleva a cabo la operación de limpieza de una manera muy rudimentaria, básicamente realizado por la cosechadora. Por su parte, en el sistema industrial, se extraen las impurezas en una mesa de separación densimétrica, en la que se descartan las semillas con menor densidad, que probablemente sea vanas o estén afectadas por insectos plaga.

El proceso de envasado y tratamiento químico es muy similar para ambos sistemas, se diferencian fundamentalmente en el material y el sellado del envase, dado que para el sistema artesanal se utilizan sacos recalados, a los cuales no se les realiza ningún proceso de desinfección y son sellados realizando un nudo, mientras que el sistema industrial utiliza sacos de polietileno transparentes, que son sellados herméticamente con una selladora semi – automática, asegurando que las semillas tengan el mínimo contacto con el exterior. Ambos sistemas utilizan pastillas de fosforo de aluminio como tratamiento químico para proteger al material de insectos.

Luego que la semilla ha sido tratada y envasada, está lista para ser almacenada hasta el próximo período de siembra (aproximadamente luego de nueve meses). En el caso del sistema artesanal, la semilla es almacenada en un depósito que se encuentra en la unidad de producción, los sacos del material se colocan sobre paletas de madera y se mantienen en las condiciones ambientales del galpón. Por su parte, en el sistema industrial, el material se dispone en paletas de la misma manera y son almacenadas las semillas en cavas refrigeradas a temperaturas entre 5 y 10 °C.

En relación con la salud de semillas, ambos lotes de semilla poseen un alto porcentaje de incidencia de patógenos, lo cual se debe principalmente a la ausencia de un tratamiento químico a base de fungicida que, minimicen el desarrollo de estos patógenos.

Se puede determinar que en el sistema artesanal posee un 94,4% de semilla afectada por patógenos, de los cuales se determinó que un 55,4% fue afectada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, y un 2,2% fue afectado por *Aspergillus* spp., mientras que la semilla del lote industrial difirió significativamente tanto en la incidencia de patógenos 54,4% como también específicamente en la incidencia de los géneros fúngicos *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* 21,6% y *Aspergillus* spp. 7%.

Es evidente que el tipo de envase y las condiciones de almacenamiento son factores fundamentales para el desarrollo de estos patógenos. Además, el uso de sacos reciclados (sin desinfección) aumenta las probabilidades de contaminación del material por patógenos, además de las altas temperaturas y una humedad relativa elevada (> 60%) típica de la región, generan condiciones propicias para el desarrollo de patógenos durante el período de almacenamiento, tal y como se vio reflejado en los resultados de este ensayo.

En el caso de la semilla infectada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, el patógeno puede ser transportado por la semilla en forma de conidios adheridas a la superficie de la testa, por suelo infectado y residuos de cosecha. En el ensayo de incidencia de patógenos se notó que la semilla infectada forma (en condiciones de laboratorio), un micelio blanco algodonoso, que coloniza las semillas en su totalidad.

También se pudo observar que el patógeno *Aspergillus* spp, tuvo una mayor incidencia en la semilla del sistema industrial. La bibliografía especializada, señala que *Aspergillus* y *Penicillium* son los hongos de almacén de mayor incidencia en semillas de frijol y caraota. Muchas de las especies de *Aspergillus*, son reconocidas como productoras de toxinas, por lo que además de afectar la germinación de las semillas o causar su pudrición pueden comprometer su consumo debido al riesgo que representan estos compuestos para la salud humana.

En relación con el ensayo de identidad varietal, no se logró establecer la identidad varietal ni la pureza genética, independientemente del sistema estudiado. Una semilla pura, es garantía de que el productor obtenga plantas con las mismas características morfológicas, de producción, ciclo de cultivo, así como de resistencia y/o tolerancia a condiciones desfavorables. Lo anterior determina el grado de confiabilidad que el pequeño productor deposita en su material al momento de resguardar su semilla.

CONCLUSIONES

La semilla común, independientemente del cultivo, no está sujeta legalmente a recibir el seguimiento de los organismos oficiales para evaluar la calidad, razón por la cual normalmente no se verifica ni en campo, ni en laboratorio, aspectos fundamentales como la salud y la pureza varietal e identidad genética.

Con respecto a los aspectos fitosanitarios, el patógeno *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, fue observado en ambos lotes de semillas, con mayor incidencia en la semilla acondicionada y almacenada de forma artesanal, lo que puede derivar en ataques futuros de campo de marchitez vascular.

El moho *Aspergillus* spp, fue detectado en ambos sistemas, pero con mayor incidencia en el industrial, aunque dicho valor es considerado bajo. Cabe destacar que su presencia, debe ser estudiada con mayor detalle, ya que el lote es usado por el agricultor como grano/semilla.

De acuerdo con los resultados de los estudios isoenzimáticos, no se logró determinar la pureza varietal y la identidad genética del cultivar objeto de estudio.

Según la información recolectada en el presente estudio, se verificó que la salud está influenciada por la forma en que se acondiciona y se almacena la semilla común de caraota.

Se comprobó que las labores de campo afectan la identidad y pureza de un cultivar, y que el mismo puede acrecentarse si ocurren contaminaciones durante el procesamiento industrial.

Las pruebas estadísticas aplicadas, contribuyeron de forma positiva para la toma de decisiones acertadas dentro de un proceso agroindustrial, motivo por el cual su uso debe ser de obligatoria aplicación para la obtención de conclusiones acertadas, considerando las condiciones experimentales específicas establecidas durante el proceso de investigación.

LISTA DE REFERENCIAS

- Araya R; Quirós W; Carrillo O; Gutiérrez MV; Murillo A.** (2010). Semillas de buena calidad. Plegable. Proyecto FAO: GCP/RLA/182/SPA. San José, Costa Rica. 27 p.
- Arias, F. G.** (2012). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica. 6ta.* Fidas G. Arias Odón.
- Badii, M., Castillo, J., Rodríguez, M., Wong A. y Villalpando, P.** (2007). Diseños experimentales e investigación científica. *Innovaciones de negocios.* 4 (2): 283 – 330.
- Criollo, J., López, D., Chucho, V. y Toscano, S.** (2023). La estadística como herramienta en la formación profesional y científica. *Revista RECIAMUC. Editorial Saberes del Conocimiento.* 7 (2): 847 – 861. Doi: 10.26820/reciamuc/7.(2).abril.2023.847-861.
- Díaz, A.** (2009). *Diseño Estadístico de Experimentos, segunda edición.* Colombia. Editorial Universidad de Antioquía. 284 p.
- Díaz, L.; E. Pérez e I. Díaz.** (2024). Evaluación de la calidad física y fisiológica de semilla común de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo dos sistemas de acondicionamiento y almacenamiento. *Petroglifos Revista crítica transdisciplinar.* 7 (1): e070104. DOI: 10.5281/zenodo.10897884.
- Doria, J.** (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Rev. Cultivos Tropicales.* 31 (1): pp. 74 – 85.
- Ellis, M.** (1971). *Dematiaceus hyphomycetes.* Surrey, England., Commonwealth Mycological Institute Kew. 608 p.
- Escalona, H.; M. Chavarri, Y. Ochoa y N. Rumbos.** (2017). Mohos toxigénicos asociados a granos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) comercializados en Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.* 43 (1): pp. 07-13.
- Gaceta Oficial Extraordinario número 6.207 del 28 de diciembre de 2015.** Ley de semillas. Disponible en: <http://www.tsj.gob.ve>.
- González, M., Gutiérrez, B. y Diamont, D.** (2011). Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante. *Bioagro* 23(1): pp. 65-68.
- Groenewold, B.; N. Pérez y J. Padilla.** (2003). Hongos Asociados a la Semilla de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* Texcoco, México. 21 (3): pp. 375-378.

- Gutiérrez, H. y De La Vara, R. (2008).** Análisis y diseño de experimentos. Segunda edición. Editorial Mc Graw-Hill Latinoamericana. México DF. 545 p.
- Hines, W., y Montgomery, D. (1996).** Probabilidad y estadística para ingeniería y administración. Tercera edición. Compañía editorial Continental S. A. 770 p.
- Hurtado, J. (2012).** Metodología de la investigación guía para la comprensión holística de la ciencia. Ediciones Quirón, CIEA-Sypal. Cuarta edición. Caracas, Venezuela. 128 p.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2016).** Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas 2016. Montevideo, Uruguay. 192p.
- Kolmogorov, A. (1933).** On the empirical determination of a distribution law. Newspaper of Italian Institute of Actuaries, 4, 83–91.
- Kume, H. (2002)** Herramientas estadísticas básicas para el mejoramiento de la calidad. Grupo editorial Norma. Bogota, Colombia. Pág. 19-26.
- León, M., Prades, F., Hernández, T. y Pérez, L. (2008).** Evaluación de la cosecha mecanizada de tres variedades de soya. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 17 (1): 21-26.
- Levene, H. (1960).** Robust Tests for Equality of Variances. In: Olkin, I., Ed., Contributions to Probability and Statistics. Stanford University Press. Palo Alto. pp. 278-292.
- Liliefors, H. (1967).** Sobre la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov con media y varianza desconocida. Revista de la Asociación Estadounidense de Estadística, 62:318, 399-402.
- Martínez, C. (2012).** Estadística y muestreo. Eco Ediciones. Bogotá. Colombia. 900p.
- Mazzani, C. 1998.** Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de Maíz (*Zea mays* L.) en Venezuela. Trabajo de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 121 p.
- Montgomery, D. (2004).** Control estadístico de la calidad. Ciudad de México, México. Limusa Wiley. 900 p.
- Montgomery, D. (2019).** Introduction to Statistical Quality Control. Octava edición. Wiley. 774 p.
- Montgomery, D. y Runger, G. (2003).** Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. Segunda Edición. Limusa – Wiley S. A. Noriega Editores. México. 816 p.
- Navidi, W. (2006).** Estadística para ingenieros y científicos. Editorial Mc Graw Hill. Ciudad de México. 868 p.

Nelson, P; Toussoun, T; Marasas, W. (1983). *Fusarium* species: an illustrated manual for identification (en línea). Pennsylvania, Pennsylvania State University Press. 193 p.

Núñez, C. y D. Escobedo. 2011. Uso correcto del análisis clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *Agronomía mesoamericana*. 22 (2): pp. 415 – 427.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2005). Producción artesanal de semilla de frijol para el pequeño agricultor. Ficha técnica FAO PESA Centroamérica número 6496. 3 p.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2006). Sistema de Semillas de Calidad Declarada. Estudio FAO producción y protección vegetal número 185. ISBN 92-5-305510-3. 267 p.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2019). Materiales para capacitación en semillas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Africa Seeds. Roma, Italia. p. 79.

Pérez, E. (2021). Evaluación de los sistemas artesanal e industrial de acondicionamiento y almacenamiento de semilla común de caraota (*Phaseolus vulgaris* L). Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero en Procesos Industriales. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ingeniería. Escuela de Procesos Industriales. Cagua, Venezuela. 98 p.

Sutton, B. (1980). The coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Surrey, England., Commonwealth Mycological Institute Kew. 696 p.