

Las Normas ISTA: Análisis de Pureza

A. Hernanz*
 N. Antón*
 E. Soblechero*
 C. Jiménez*
 J. M. Durán*

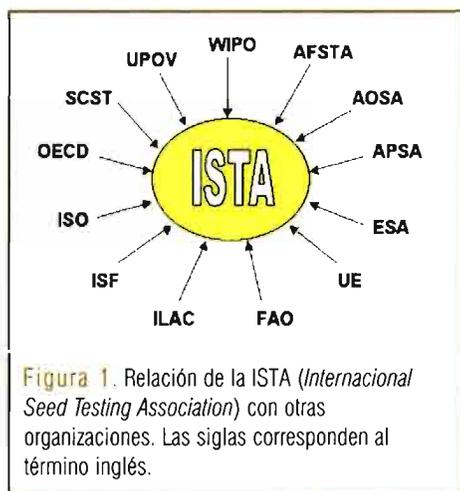


Figura 1. Relación de la ISTA (*Internacional Seed Testing Association*) con otras organizaciones. Las siglas corresponden al término inglés.

¿Qué es ISTA?

La ISTA es una asociación internacional de entidades, sin fines lucrativos, relacionadas con el análisis de semillas, cuya actividad principal es la de proporcionar métodos y servicios para dicho fin. En el momento actual (2005) la ISTA cuenta con ciento sesenta y dos laboratorios, de los cuales noventa y cinco están acreditados, pertenecientes a setenta y cuatro países. Su sede principal está localizada en Zurich y su página web es <http://www.seedtest.org>,

donde se puede encontrar información más detallada de la Asociación.

Los objetivos principales de la ISTA son:

- Desarrollar, adoptar y publicar procedimientos estandarizados para muestreo y análisis de semillas y difundir internacionalmente la aplicación de dichos procedimientos.
- Promover investigaciones en todas las áreas vinculadas a la semilla, ciencia y tecnología.
- Fomentar el certificado de variedades (cultivares).
- Participar en conferencias y cursos de formación profesional con el propósito de promover sus objetivos.
- Establecer y mantener relaciones con organizaciones relacionadas con semillas.

La ISTA trabaja en estrecha colaboración con importantes entidades en el campo de las semillas. Esta cooperación evita la duplicación de trabajo en control de semillas y facilita un planteamiento

uniforme en la evaluación de calidad de semillas respecto al comercio internacional (**Figura 1**).

Periódicamente la ISTA organiza congresos y otras reuniones para sus miembros. El último Symposium tuvo lugar en Budapest (Hungria) en mayo de 2004, cuyo tema fue "Mirando hacia el futuro de la producción, evaluación y mejora de las semillas"

A partir de 1931, la ISTA publica de forma periódica, un manual conocido como **ISTA Rules** (Normas de la ISTA) donde se describen los procedimientos y técnicas

Relación de la ISTA

AFSTA: Asociación Africana del Comercio de Semillas

AOSA: Asociación Oficial Norteamericana de Analistas de Semillas

APSA: Asociación de Semillas de Asia y Pacífico

ESA: Asociación Europea de Semillas

UE: Unión Europea

FAO: Organización de Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas

ILAC: Comité Internacional de Acreditación de Laboratorios

ISF: Federación Internacional del Comercio de Semillas

ISO: Organización Internacional para la Estandarización

OECD: Organización para el Desarrollo y Cooperación Económica

SCST: Sociedad Tecnológica de Semillas Comerciales

UPOV: Unión Internacional para la Protección de Nuevas Variedades de Plantas

WIPO: Organización Mundial de la Propiedad Intelectual

* Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.



Figura 2. Portada del documento que edita la ISTA (*Internacional Seed Testing Association*) con la normativa a seguir a la hora de realizar análisis de calidad en materia de semillas.

cas que deben ser usadas en análisis de semillas (**Figura 2**). La composición de este manual, aunque ha ido variando con el tiempo, en este momento se divide en los siguientes capítulos:

- Muestreo
- Análisis de pureza
- Determinación del número de otras semillas
- Pruebas de germinación
- Pruebas de viabilidad
- Pruebas de sanidad de semillas
- Identificación de especies y cultivares
- Determinación del contenido en humedad
- Determinación del peso
- Pruebas para semillas recubiertas
- Pruebas de viabilidad para el embrión
- Pruebas para pesadas múltiples
- Pruebas con rayos-X
- Pruebas de tolerancia

Una serie de Comités Técnicos revisan constantemente las Reglas o Normas ISTA y sus enmiendas, una vez debatidas en sesiones de trabajo, tienen que ser aprobadas por la Junta General para poder ser admitidas con carácter general.

En este artículo describiremos cómo se lleva a cabo en un laboratorio un análisis de pureza según las directrices que emanan de las Normas ISTA.

Análisis de pureza

El análisis de pureza consiste en un examen pormenorizado de todos los elementos que componen la muestra de laboratorio, analizando si pertenecen o no a la especie objeto de estudio. Teniendo en cuenta que los mecanismos de limpieza de semillas no son perfectos, es normal que en un lote de semillas podamos encontrar impurezas y semillas de otras especies, que pueden influir negativamente sobre su valor comercial. Al someter la muestra a una prueba de pureza, el analista detecta el nivel de contaminación de la muestra y por extensión del lote (**Figura 3**).

Cuando se evalúa un lote de semillas, los datos obtenidos en el análisis de pureza y los que proceden de la prueba de germinación han de ser considerados

semillas válidas, pero en el de germinación quedarían excluidas.

El principal objetivo de un análisis de pureza es determinar el porcentaje en peso que representa la fracción de semilla pura de una muestra representativa de un lote.

El segundo objetivo es identificar la materia inerte y las semillas de otras especies que se encuentran en la muestra.

La persona encargada de realizar un análisis de pureza, tras depositar la muestra sobre una superficie plana, con la ayuda del material que a continuación se cita, procede a la separación, análisis y clasificación de todos los elementos que componen la muestra. Los componentes que pueden aparecer en muestra de semillas se agrupan en tres fracciones: Semilla pura, materia inerte y otras semillas.

La ISTA es una asociación internacional de entidades relacionadas con el análisis de semillas, cuya actividad principal es la de proporcionar métodos y servicios para este fin

de forma conjunta. La razón es que, en el primer análisis se consideran semillas puras si pertenecen a la especie en concreto, aunque a lo mejor no superen la prueba de germinación, por lo que en el análisis de pureza se considerarían

Material necesario

Puesto que se trata de un reconocimiento visual, la persona que realiza el ensayo debe estar familiarizada con los rasgos taxonómicos de las semillas, de modo que le sea fácil identificar cada componente. No obstante, conviene que el laboratorio cuente con una **Colectión de Semillas** que permitan al analista determinar por comparación las especies que aparecen en la muestra.

A la hora de realizar un análisis de pureza el analista puede contar con los siguientes medios (**Figura 4**):

- **Mesa de trabajo.** Conviene que sea una superficie lisa y limpia.
- **Espátulas o pinzas** para separar los elementos de forma manual.



Figura 3. Aquenios de girasol (*Helianthus annuus* L.) con restos de materia inerte.

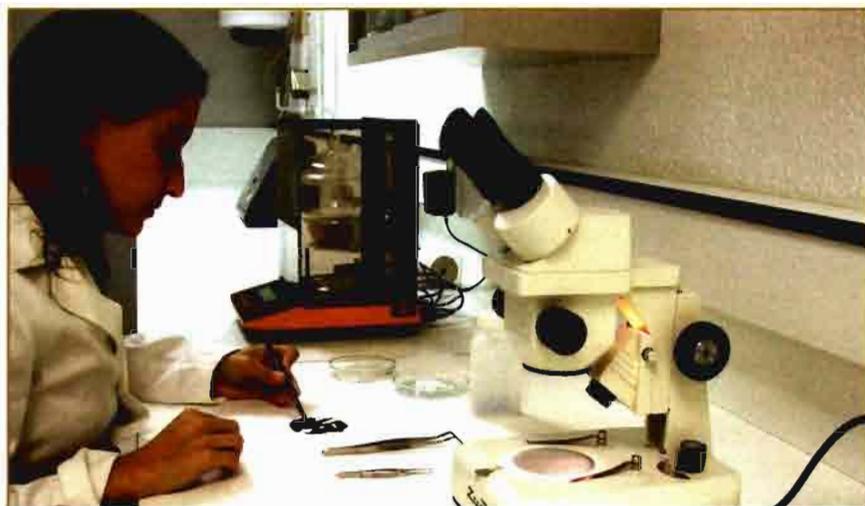


Figura 4. Instrumentos (pinzas) y equipos (lupa binocular y balanza) utilizados frecuentemente en un análisis de pureza.

- **Instrumentos de visualización**, entre los que destacan las lupas de varios aumentos o reflectores de luz, muy útiles para detectar aquellas espiguillas que en su interior no contienen semillas, como las pertenecientes a la familia Poaceae (Gramíneas).

- **Cribas o tamices**. Son instrumentos de separación física que permiten la separación de partículas en función de su tamaño.

- **Aventadores**. Son instrumentos que separan los elementos por su diferencia de peso. Para ello utilizan una corriente de aire uniforme previamente seleccionada por el analista. Son muy útiles para separar las glumas u otro material ligero (hojas o restos de tallo) de la semilla. Es frecuente usarlos cuando se trata de separar semillas de muy pequeño tamaño y por lo tanto de difícil manejo, o cuando la muestra contiene una elevada cantidad de impurezas.

- **Separadores magnéticos**. Son muy útiles para la separación de semillas de cuscuta.

- **Diafanoscopio**. Es un instrumento que utiliza la luz como medio de observación y separación.

- **Mesa densimétrica**. Equipo utilizado para separar materiales con características morfológicas similares pero con diferente peso específico. En un análisis de pureza puede ser utilizado para facilitar la separación de las tres fracciones (Figura 5).

Según el tipo de semilla, el analista debe evaluar las características geométricas, físicas y mecánicas (perfil aerodinámico, elasticidad o rozamiento, entre otras) de las semillas que componen la muestra y elegir en cada caso el procedimiento idóneo.

Fracción: Semilla pura

Es la porción de la muestra de trabajo que representa la especie botánica declarada sobre la que se está realizando el análisis (Figura 6).

En este análisis no se hace distinción entre variedades o cultivares; por lo tan-

Las normas ISTA describen los procedimientos y técnicas que deben ser usadas en análisis de semillas

to, analiza la **pureza específica** y no la pureza varietal.

En el caso de especies con características morfológicas muy parecidas, el analista no puede visualmente diferenciarlas. A simple vista, las semillas de *Avena sativa*, *A. fatua*, *A. bizantina* y *A. sterilis*, son prácticamente imposibles de distinguir. Aunque la ISTA las recoge en la fracción semilla pura, como no hay normativa específica que señale cómo distinguirlas, dependerá del organismo que las analice para que queden incluidas en la fracción de semilla pura o dentro de otras semillas.

Para facilitar al analista la distinción entre elementos que pertenezcan a la fracción semilla pura y aquellos considerados como fracción materia inerte, la ISTA ha establecido una definición de semilla pura para los géneros más importantes.

Si las semillas cumplen la definición que les corresponde y no muestran daños en la testa o pericarpio serán consideradas como semilla pura, independientemente de que estén llenas o vacías. El problema se plantea cuando la testa está deteriora-



Figura 5. Mesa densimétrica. La separación en fracciones de una muestra depende de la cantidad de aire que se aplica sobre el material, de la inclinación de la mesa y de la velocidad de vibración de la misma.

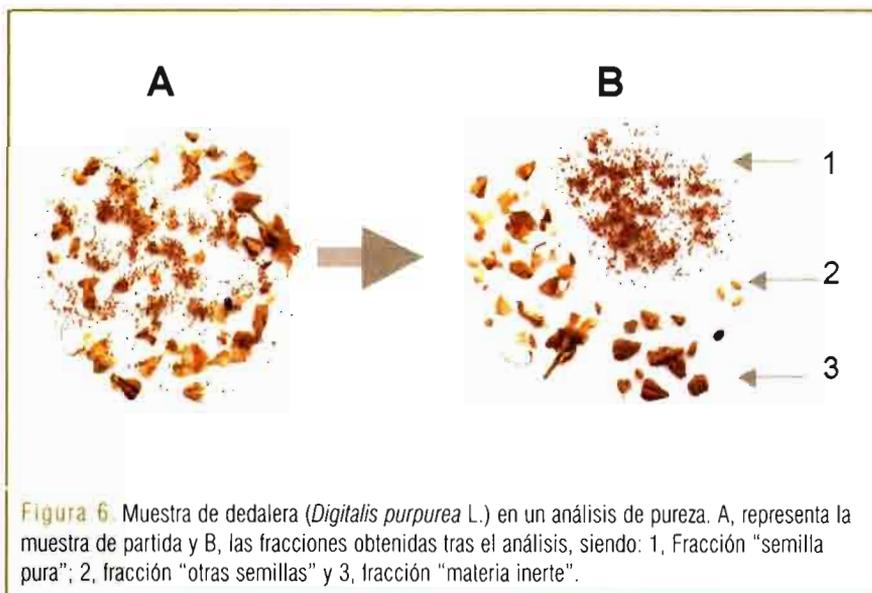


Figura 6. Muestra de dedalera (*Digitalis purpurea* L.) en un análisis de pureza. A, representa la muestra de partida y B, las fracciones obtenidas tras el análisis, siendo: 1, Fracción "semilla pura"; 2, fracción "otras semillas" y 3, fracción "materia inerte".

da; en este caso, tiene que ser el analista quien determine si pertenece o no a la fracción denominada semilla pura.

Como norma general, se considera semilla pura: a) las semillas pertenecientes a la especie botánica declarada; b) las semillas de tamaño inferior al normal, inmaduras, arrugadas, enfermas o germinadas y c), los trozos de semillas de la especie declarada, cuyo tamaño sea mayor que la mitad del tamaño de la semilla original.

Fracción: Materia inerte

Este término hace referencia a cualquier elemento que no sea semilla (Figura 6).

Fracción: Otras semillas

Se consideran elementos de esta fracción las semillas de especies distintas a la principal (Figura 6), siempre que aparezcan en una proporción inferior al cinco por ciento; en caso contrario la muestra se considerará "mezcla".

Resultados

Una vez que el analista ha separado todos los elementos y los ha clasificado en las tres fracciones posibles, se procede al pesado de cada una de ellas. De esta forma se obtiene:

- Peso total de la muestra (g).
- Peso de la fracción denominada semilla pura (g).

- Peso de la fracción denominada otras semillas (g).
- Peso de la fracción denominada materia inerte (g).

El cálculo de porcentajes de cada fracción se hará respecto a la suma de los pesos de las tres fracciones y no con relación al peso total inicial.

Se debe comparar el peso inicial de la muestra y la suma de los tres componentes. Estos dos valores no pueden diferir en más de un 0.5 por ciento; en caso contrario habría que repetir el ensayo.

Ideas Básicas

- En 1924 se crea la **International Seed Testing Association** (ISTA), con sede actual en Zurich (Suiza), con el objetivo de atender, de manera global, las necesidades que el uso y el comercio internacional de semillas plantea.

• **Las Normas de la ISTA (ISTA Rules)** describen los procedimientos y técnicas que deben seguirse para llevar a cabo en un laboratorio los análisis relacionados con la calidad que presentan las semillas: Germinación, pureza o viabilidad, entre otros.

• **Análisis de pureza:** Determina el porcentaje en peso de los componentes que conforman una muestra de semillas.

• **Componentes de una muestra tras un análisis de pureza.** Se consideran tres fracciones:

Fracción: Semilla pura
Fracción: Materia inerte
Fracción: Otras semillas

Expresión de resultados

El resultado de un análisis de pureza viene determinado por los cálculos que seguidamente se indican:

Semilla pura

$$P_2 = P_1 \cdot \frac{M - m}{M}$$

siendo:

P_2 = Porcentaje en peso de semillas pura teniendo en cuenta la influencia de las impurezas separadas *a priori*.

P_1 = Porcentaje en peso de semilla pura excluyendo las impurezas.

M = Peso inicial de la muestra con todos los componentes (g).

m = Peso total de las impurezas (g).

Materia inerte

$$I_2 = I_1 \cdot \frac{M - m}{M} + \left(\frac{m_1}{M} \right) \cdot 100$$

siendo:

I_2 = Porcentaje en peso de materia inerte teniendo en cuenta la influencia de las impurezas separadas *a priori*.

I_1 = Porcentaje en peso de materia inerte excluyendo las impurezas.

M = Peso inicial de la muestra con todos los componentes (g).

m = Peso total de las impurezas (g).

m_1 = Peso de las impurezas clasificadas como materia inerte (g).

Otras semillas

$$O_2 = O_1 \cdot \frac{M - m}{M} + \left(\frac{m_2}{M} \right) \cdot 100$$

siendo:

O_2 = Porcentaje en peso de otras semillas teniendo en cuenta la influencia de las impurezas separadas *a priori*.

O_1 = Porcentaje en peso de otras semillas excluyendo las impurezas.

M = Peso inicial de la muestra con todos los componentes (g).

m = Peso total de las impurezas (g).

m_2 = Peso de las impurezas clasificadas como otras semillas (g).