

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



SUPERACIÓN DE LA LATENCIA EN SEMILLA DE KUDZU

(Pueraria phaseoloides)

Presentado por:

ABEL JORGE ZAMBRANO MARCOS

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

Lima – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

“SUPERACIÓN DE LA LATENCIA EN SEMILLA DE KUDZU

***(Pueraria phaseoloides)*”**

Presentado por:

ABEL JORGE ZAMBRANO MARCOS

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

Sustentado y Aprobado ante el siguiente Jurado:

.....
Ing. Mg. Sc. Andrés Casas Díaz
PRESIDENTE

.....
Ing. Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo
PATROCINADORA

.....
Ing. Mg. Sc. Hugo Soplín Villacorta
MIEMBRO

.....
Ing. Mg. Sc. Luis Beingolea Peña
MIEMBRO

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

El presente trabajo de tesis se lo dedico a mis padres: ***Rosalino Zambrano Zelarayan*** y ***Paulina Marcos Quispe***, porque desde niño me inculcaron el deseo de superación, por apoyarme y saberme guiar con sus sabios consejos durante mi vida estudiantil, ellos son la principal fuente de inspiración y amor que me da fuerza para enfrentarme a la vida y seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

- A la Ing, Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo, patrocinadora de la presente tesis por su orientación, constante e invaluable apoyo en la ejecución y culminación del presente trabajo.
- A los miembros del jurado: Al Ing. Andrés V. Casas Díaz, Ing. Hugo Soplín Villacorta y al Ing. Luis Beingolea Peña, a quienes agradezco eternamente, por su apoyo y asesoramiento en la culminación de mi trabajo.

INDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Objetivos generales	2
1.2	Objetivos específicos	2
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1	Kudzu (<i>Pueraria phaseoloides</i>)	3
2.1.1	Origen e introducción al Perú	3
2.1.2	Taxonomía	3
2.1.3	Características botánicas	3
2.1.4	Morfología y propagación	4
2.1.5	Adaptación	5
2.2	Dormancia	5
2.2.1	Concepto y clasificación de dormición en semillas	6
2.2.2	Dormancia y semilla	6
2.2.3	Ventajas y desventajas de la dormancia	8
2.2.4	Valor práctico de la dormancia	9
2.2.5	Causas de la dormancia	9
2.2.6	Tipos de dormancia en semillas	10
2.3	Tratamientos de escarificación para romper dormancia	12
2.3.1	Escarificación mecánica	12
2.3.2	Escarificación química	12
2.4	Viabilidad	14
2.5	Germinación	14
2.5.1	Factores que intervienen en la germinación	15
2.5.2	Tipos de germinación	22
2.5.3	Estructuras esenciales de las plántulas	23
2.5.4	Categorías de plántulas y semillas de germinación en un ensayo	25
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1	Materiales	27
3.1.1	Lugar de ejecución	27
3.1.2	Equipos y materiales	27
3.1.3	Variables estudiadas	28

3.1.4	Medición de las variables	28
3.1.5	Tratamientos	28
3.2	Métodos	29
3.2.1	Procedimientos	29
3.2.2	Ensayo de germinación	30
3.3	Diseño experimental	30
3.3.1	Especificaciones del diseño	30
3.3.2	Modelo estadístico	31
3.3.3	Análisis de variancia (ANVA)	33
3.3.4	Prueba de significación	33
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1	Porcentaje plántulas normales	34
4.2	Porcentaje de semillas no germinadas	36
4.3	Porcentaje de germinación fisiológica	38
V.	CONCLUSIONES	41
VII.	ECOMENDACIONES	42
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
VIII.	ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 01	Especificaciones de los tratamientos aplicados a las semillas de kudzu (<i>Pueraria phaseoloides</i>)	31
Cuadro 02	Análisis de variancia (ANVA)	33
Cuadro 03	Análisis de variancia para el porcentaje de plántulas normales	34
Cuadro 04	Comparación de medias para el porcentaje de plántulas normales	35
Cuadro 05	Análisis de variancia para el porcentaje de semillas no germinadas	37
Cuadro 06	Comparación de medias para el porcentaje de semillas no germinadas	37
Cuadro 07	Análisis de variancia para el porcentaje de germinación fisiológica	39

Cuadro 08	Comparación de medias para el porcentaje de germinación fisiológica	39
-----------	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01	Kudzu tropical	4
Figura 02	Curva del proceso de absorción de agua	17
Figura 03	Niveles relativos de ABA y contenido hídrico durante el desarrollo de la semilla	20
Figura 04	Germinación epigea e hipogea	23
Figura 05	Estructuras esenciales de una plántula dicotiledónea	24
Figura 06	Estructuras esenciales de una plántula monocotiledónea	24
Figura 07	Media de tratamientos expresados en plántulas normales	36
Figura 08	Media de tratamientos expresados en semillas no germinadas	38
Figura 09	Media de tratamientos expresados en porcentaje de germinación fisiológica	40

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 01	Análisis ANVA para el porcentaje de plántulas normales	49
Anexo 02	Análisis ANVA para el porcentaje de semillas no germinadas	51
Anexo 03	Análisis ANVA para el porcentaje de germinación fisiológica	53
Anexo 04	Reporte de análisis de semilla de kudzu	55

RESUMEN

La investigación en semillas de kudzu (*Pueraria phaseoloides*), especie de vital importancia para la implementación de pastos tropicales en la selva del Perú, se realizó en el Laboratorio de Semillas del Departamento Académico de Fitotecnia de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina con la finalidad de superar la latencia y promover la germinación.

Los tratamientos aplicados fueron el ácido sulfúrico (98%), el nitrato de potasio (0.2%), el ácido sulfúrico + nitrato de potasio (0.2%), el agua, la escarificación mecánica (lija) y un testigo. El diseño fue completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones y 24 unidades experimentales, con el respectivo análisis de varianza (ANVA) y para la comparación de medias se empleó la prueba Tukey al 0.05. Los análisis estadísticos arrojaron una alta significancia estadística para los tratamientos estudiados, siendo la escarificación química mediante el empleo de ácido sulfúrico (98%) y ácido sulfúrico + nitrato de potasio (0.2%) los que arrojaron resultados satisfactorios en la ruptura de la testa de la semilla de kudzu.

Palabras claves: *Pueraria phaseoloides*, latencia, escarificación química, escarificación mecánica, germinación.

ABSTRACT

The research on seeds of kudzu (*Pueraria phaseoloides*), a species of vital importance for the implementation of tropical pastures in the jungle of Peru, was carried out in the Seed Laboratory of the Academic Department of Plant Breeding of the Faculty of Agronomy of the National Agrarian University. Molina in order to overcome latency and promote germination.

The treatments applied were sulfuric acid (98%), potassium nitrate (0.2%), sulfuric acid + potassium nitrate (0.2%), water, mechanical scarification (sandpaper) and a control. The design was completely randomized (DCA) with four repetitions and 24 experimental units, with the respective analysis of variance (ANVA) and for the comparison of means, the Tukey test was used at 0.05. The statistical analyzes showed a high statistical significance for the studied treatments, being the chemical scarification by means of the use of sulfuric acid (98%) and sulfuric acid + potassium nitrate (0.2%) which showed satisfactory results in the rupture of the seed coat. the kudzu seed

Key words: *Pueraria phaseoloides*, latency, chemical scarification, mechanical scarification, germination.

I. INTRODUCCIÓN

El kudzu (*Pueraria phaseoloides*) es nativo del sureste asiático y se encuentra distribuido en varios países tropicales, donde es utilizado para diferentes fines destacándose como cultivo de cobertura de suelo y en la alimentación animal, en nuestro país ha representado un importante papel en la selva, debido a su excelente adaptación a condiciones de suelos ácidos y de baja fertilidad; sin embargo, la semilla de esta especie presenta dormancia (Cabrales, 1975), siendo esta, la causa del poco éxito obtenido en el establecimiento del cultivo. Para solucionar este problema es necesario el uso de tratamientos de escarificación (Chee y Tan, 1982).

La dormancia es el estado en el cual, las semillas a pesar de tener las condiciones normales del medio ambiente para su germinación, no lo hacen debido a mecanismos físicos y fisiológicos de la semilla (Copeland y McDonald, 1992). Esta característica es el factor más importante que afecta la germinación de las semillas de kudzu y en consecuencia, limita el buen establecimiento del cultivo.

Las causas principales de la dormancia en semillas de leguminosas es la presencia de un tegumento o testa dura que las hace impermeables al agua (Cabrales, 1975). Sin embargo, la dormancia de las semillas se elimina de manera natural con la exposición de las semillas al sol durante 6 horas (Cid, 1983), dependiendo de las condiciones climáticas del lugar donde se almacena. De ahí, si la semilla de esta especie se utiliza para el establecimiento del cultivo inmediatamente después de la cosecha, es posible que tenga baja o nula germinación y por tanto, se fracase en el establecimiento del cultivo. Sin embargo, esta limitante de las semillas se puede mejorar de manera artificial mediante el empleo de métodos de escarificación previos a la siembra (García y Cícero, 1992).

En esta especie vegetal se utilizan diferentes métodos para romper la dureza de la testa de estas semillas, ya sea mediante escarificación mecánica o química, usando un corte en la testa o simplemente agua caliente (Aragao y Costa, 1983).

El alcance de la investigación es descriptivo y tiene los siguientes objetivos:

1.1 Objetivo general

- Superar la latencia de la semilla de kudzu para promover la germinación.

1.2 Objetivos específicos

- Comparar el efecto del remojo en agua, la escarificación química con ácido sulfúrico y el remojo en una solución de nitrato de potasio como métodos para superar la latencia en semillas de kudzu.
- Comprobar la metodología propuesta por ISTA (1993, 2004, 2007) para superar la latencia en la prueba de germinación de semillas de kudzu.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Kudzu (*Pueraria phaseoloides*)

2.1.1 Origen e introducción al Perú

El kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*) es originario de Asia sudoriental, Malasia e Indonesia y actualmente se halla muy extendido en los trópicos húmedos (Skerman, 1991). Es introducido al Perú aproximadamente en 1942 a la entonces Estación Agrícola de Tingo María (Muro y Agreda citado por Contreras, 2012). Crece bien en la región tropical y subtropical de la selva peruana (Romero, 1988).

2.1.2 Taxonomía

El kudzu, según APG III (2009), APG IV (2016), Chase y Reveal (2009) y Haston *et al.* (2009), se encuentra enmarcado en la siguiente clasificación taxonómica:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Fabales Bromhead

Familia: Fabaceae Lindl.

Género: *Pueraria* DC.

Especie: *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth.

Otros nombres: También se le como *Pueraria Benth*; *Pueraria phaseoloides* (Roxb) **Benth. variedad javanica**, *Neustanthus javanicus* **Benth.** Los nombres más comunes son kudzu tropical en la mayor parte de los trópicos (Arias, 1986).

2.1.3 Características botánicas

Es una leguminosa perenne, vigorosa, voluble y trepadora, ligeramente leñosa, velluda y de raíces profundas, posee hojas de tres folíolos, las cuales presentan una cubierta suave de pelos, sus raíces son tuberosas, sus tallos principales son delgados, enraízan los nudos cuando entran en contacto con el suelo húmedo, las ramas secundarias derivan de los nudos para crear una densa masa de vegetación de 60 a 75 cm de altura, los brotes jóvenes están densamente cubiertos de pelos marrones, las flores se presentan en

racimos densos de color morado. Las vainas de forma cilíndrica, también son pubescentes y contienen numerosas semillas duras de color gris oscuro (Forero, 2002).

2.1.4 Morfología y propagación

Sus tallos principales tienen 0.6 cm de diámetro y pueden llegar de 5 a 6 m de longitud. Pueden enraizar por los nudos y de estos formar una serie de ramas laterales o secundarias. Las hojas son grandes y trifoliadas, que brotan en peciolo de 5 a 10 cm de largo cubiertas con pelos ascendentes. Los folíolos son delgados, triangulares ovados y superficialmente lobulados. De los racimos axilares brotan parejas dispersas de pequeñas flores de malva a púrpura oscuro; los racimos tienen de 15 a 30 cm de largo y están sobre los pedúnculos de unos 12.5 cm de largo. La vaina es recta o ligeramente curva, lineal, cilíndrica de 7.5 a 8.5 cm de largo, débilmente revestida de apretados pelos tiesos, negros cuando está madura y contiene de 10 a 20 semillas (por lo general unas 16), de oblongas a más bien cuadradas, con esquinas redondas, de color pardo a negro pardusco, de unos 3 mm (Barnard citado por Skerman, 1991) (Fig. 01).

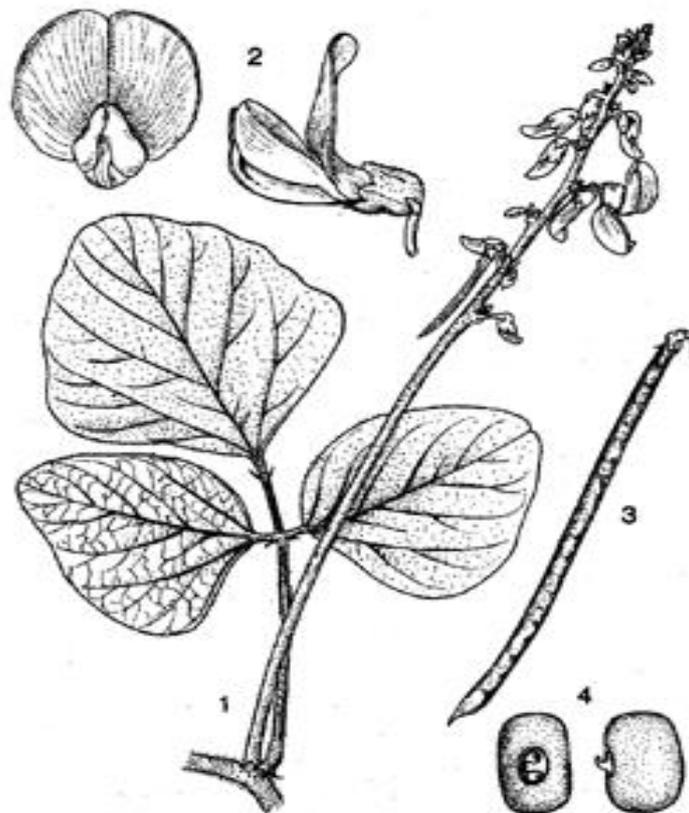


Figura 01. Kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*)

Modificado de *Skerman* (1991) 1 Hoja, 2 Flor, 3 Vaina, 4 Semilla

Para su propagación se puede utilizar la semilla botánica o vegetativa, siendo la densidad de siembra de 10 kg/ha al voleo o de 1250 plantas/ha, alcanzando plena producción a los tres años (Hughes *et al.* citado por Contreras, 2012). Sin embargo, Skerman (1991) comentan que la propagación de kudzu es principalmente por rizomas y de esta forma coloniza extensamente en suelos aptos con suficientes precipitaciones.

2.1.5 Adaptación

El kudzu crece bien en regiones con altitudes entre los 0 y 2000 msnm, con temperaturas entre 18 y 25°C y precipitaciones entre 900 y 2000 mm anuales. Al igual que otras leguminosas, el kudzu se establece en praderas asociado con gramíneas, el pastoreo debe realizarse cuando alcanza una altura de 15 a 20 cm del suelo para asegurar su persistencia en la pradera (Forero, 2002).

Es una trepadora vegetal densa y vigorosa, que se cultiva en los países tropicales, prefiere suelos arcillosos fértiles y precipitación elevada, sus raíces son profundas, no sufren por las sequías de corta duración. Es apetecible y de gran rendimiento (FAO citado por Forero, 2002).

El conjunto de tallos y hojas forman una gruesa y tupida cama que cubre completamente el terreno. Al contacto con el suelo arraigan nudos de las ramas, por lo que un prudencial pisado de los animales en determinadas épocas favorece bastante su expansión (Flores citado por Cuibin, 2011).

2.2 Dormancia

La dormancia o también denominada por varios autores como latencia, dormición, letargo, reposo o vida latente.

La dormancia o latencia es el estado, en el cual las semillas vivas a pesar de tener las condiciones normales del medio ambiente para su germinación, no lo hacen, debido a mecanismos físicos y fisiológicos en la semilla (Copeland y McDonald, 1992).

Se trata de una característica heredable, cuya expresión es modificada por las condiciones ambientales que se dan durante el proceso de maduración de la semilla sobre la planta madre (Pelton citado por Hernández, 2010).

2.2.1 Concepto y clasificación de dormición en semillas

- a. Dormición: Es la suspensión temporal del crecimiento visible de cualquier estructura que contenga meristemos (Lang citado por Hernández, 2010).
- b. Paradormición: Según Febles (1985), es el impedimento para la germinación dentro de la semilla, pero por fuera de la estructura durmiente (embrión), por ejemplo: cubiertas duras y/o impermeables a los gases y al agua o inhibidores individuales, o balances inhibidores en la cubierta interna (endosperma o perisperma).
- c. Endodormición: Impedimento dentro de la estructura durmiente, tales como: embriones inmaduros o balances hormonales inhibitorios (Sierra, 2002).
- d. Ecodormición: Limitante para el crecimiento en el medio ambiente en el que se encuentra la semilla (falta de agua, temperatura, oxígeno, luz) (Sierra, 2002).

Asimismo, Carambula (1984) señaló que la dormancia constituye un estado que presentan las semillas, en el cual no germinan mientras sus embriones no sufran una serie de cambios fisiológicos y químicos previos.

2.2.2 Dormancia y semilla

El fenómeno de la dormancia es común, principalmente en semillas de determinadas hortalizas, forrajeras, algunas fruteras y de especies arbóreas y ornamentales, que no germinan después de la cosecha debido a los mecanismos internos, de naturaleza física o fisiológica, que bloquean la germinación (Varela y Arana, 2011).

Estos mecanismos son genéticos y acontecen durante el ciclo de vida de la especie, durante la maduración de la semilla, de modo que después de la dispersión, la semilla todavía no está apta para germinar, esta dormancia que se instala en la fase de maduración de la semilla, es denominada *dormancia primaria*.

No obstante, en algunas especies, el bloqueo a la germinación se establece luego de la dispersión de la semilla, inducido por ciertas condiciones de estrés o por un ambiente

desfavorable a la germinación, caracterizando a otro tipo de dormancia, denominada *dormancia secundaria*.

Las semillas durmientes son aquellas que, más allá de que estén vivas y sobre condiciones de ambiente que normalmente favorecen el proceso de germinación, no germinan por causa de alta restricción interna, la cual impide el desarrollo del embrión.

La germinación solamente ocurrirá cuando tal restricción sea superada, lo que en la naturaleza puede llevar días, meses o años, dependiendo de la especie.

Una vez madura, la semilla es desprendida de la planta madre, tornándose en un organismo autónomo, pues tiene en su estructura un embrión que en condiciones adecuadas de ambiente, se desenvolverá originando una plántula. No obstante, como esto no siempre ocurre, la pregunta es porqué las semillas de algunas especies no germinan, inclusive cuando son sembradas en condiciones adecuadas de humedad y temperatura.

La respuesta puede parecer simple: porque ya están en proceso avanzado de deterioro, que culmina con la muerte del embrión o están durmientes.

De esta forma, la dormancia de la semilla es un importante estadio del ciclo de vida de las plantas, caracterizada por la ausencia temporaria de la capacidad de germinación, permitiendo que las especies vegetales sobrevivan a las adversidades, principalmente aquellas que dificulten o impidan el crecimiento vegetativo de la planta.

Se trata, por lo tanto de un fenómeno fundamental para la perpetuación y la sobrevivencia de muchas especies vegetales en los más variados ecosistemas, por ejemplo: la dormancia permite en las angiospermas obviar los periodos de sequías o fríos inadecuados para el crecimiento vegetal.

También es gracias a la dormancia que semillas de muchas especies no germinan en el fruto cuando este está todavía prendido a la planta, pues luego de la maduración fisiológica y en condiciones ambientales favorables a la germinación (aumento de la

humedad por el exceso de lluvias), las semillas sin bloqueos al crecimiento del embrión podrán germinar en la planta madre.

Cabe resaltar que la mayoría de las plantas cultivadas actualmente es representada por variedades, cultivares e híbridos genéticamente mejorados por procesos de selección que eliminaron la dormancia, pues los objetivos de la agricultura moderna son la rapidez y la uniformidad de la germinación de la semilla y de la emergencia de la plántula en campo.

Una misma especie puede variar en función del genotipo, del ambiente donde la semilla fue producida y de otros factores. Además, semillas oriundas de una misma planta tienen intensidades distintas de dormancia, para que la germinación ocurra a lo largo del tiempo, en intervalos irregulares, a medida que la dormancia es superada, aumentando la probabilidad de sobrevivencia de los individuos.

De esta forma, el impedimento a la germinación de la semilla, establecido por la dormancia, se constituye en una estrategia benéfica por distribuir la germinación a lo largo del tiempo y permitir a la especie “escapar” de condiciones adversas al crecimiento de la plántula.

Aparentemente la dormancia evolucionó como un mecanismo de supervivencia de las especies a determinadas condiciones climáticas, ya que en las regiones de clima templado el invierno sería una amenaza para la sobrevivencia de las especies.

La dormancia tiene algunas desventajas ya que son necesarios periodos largos para que un lote de semillas la supere, la germinación se distribuye en el tiempo, contribuye a la longevidad de las plantas invasoras, interfiere con los programas de siembra y presenta problemas para evaluar la calidad de las semillas.

2.2.3 Ventajas y desventajas de la dormancia

En algunos casos, la condición de permanecer inactivas las semillas es una desventaja; no obstante, permite la supervivencia de las mismas a las condiciones adversas (Evenari, Rao y Roberts citados por Alfaro, 2015), donde las semillas se protegen de

condiciones medioambientales adversas restringiéndose la germinación en tiempo y espacio.

En otros casos, se convierte en indeseable, pues las semillas no germinan, incluso teniendo las condiciones idóneas.

Se dice entonces que la semilla está en estado de latencia o reposo llamado también dormancia. Sin embargo, en las condiciones de cultivo la dormancia de las semillas representa en la mayoría de los casos, ciertas incomodidades y desventajas para el establecimiento rápido y vigoroso de un pasto, con frecuencia hay siembras frustradas cuando no se había tomado en cuenta la dormancia de las semillas.

Por otra parte, la dormancia de las semillas puede ser útil para la preservación prolongada, es por eso que la dormancia puede convertirse en ventaja.

2.2.4 Valor práctico de la dormancia

La existencia de la dormancia en las semillas se considera como una característica biológica o una adaptación muy útil para la sobrevivencia de la especie en el ambiente natural.

Este mecanismo, por ejemplo impide la germinación inmediata y completa de las semillas cuando ellas aún se encuentran en la planta “madre”. Además, permite a la planta conservar en el suelo para largos plazos sus gérmenes latentes hasta que las condiciones se hagan favorables.

2.2.5 Causas de la dormancia

Las causas más comunes de dormancia son las siguientes:

- a. Cubiertas duras e impermeables al agua y al oxígeno: Las envolturas de las semillas juegan un papel notable, ya que impiden la germinación limitando el acceso de agua y oxígeno al embrión. La rotura o separación de estas cubiertas llevan a aumentar la energía de la germinación. La duración del periodo de la dormancia relacionada con la impermeabilidad de sus envolturas está en dependencia de las condiciones de almacenamiento posterior a la cosecha.

- b. *Inmadurez del embrión*: En algunas semillas, los embriones no se diferencian bien y se presentan al madurar como masas de células. Otras plantas diferencian sus embriones hasta un grado más elevado; sin embargo, al emprender la germinación se continúa con el crecimiento y el desarrollo del embrión que logra alcanzar tamaños mayores. En ambos casos mencionados tiene lugar la dormancia que se debe a la inmadurez del embrión. A veces las semillas con este tipo de dormancia no germinan durante múltiples años bajo el régimen de temperaturas elevadas requiriendo, al contrario las bajas para poder romper la latencia.

Puede ser causa de dormancia la presencia de embriones rudimentarios (Pillay citado por Alfaro, 2015), esta condición se presenta debido a una fertilidad baja en la fecundación de la semilla y al momento de cosecha de la misma, exigiendo por lo tanto concretar los estudios hacia la recolección óptima de las mismas. Esta causa de dormancia puede ser atenuada realizando una cosecha correcta y dándole a la planta todas las condiciones de desarrollo.

- c. *Presencia de inhibidores de la germinación*: Las semillas pueden contener varias sustancias químicas que impiden la germinación y que reciben el nombre de inhibidores, tales como: amoníaco, ácido cianhídrico, aceites esenciales, etc. A veces el inhibidor es sensible a la luz o soluble en el agua y por eso puede ser eliminado por uno de sus factores.

Hembery citado por Alfaro (2015) indicó que la relación entre la dormancia y la germinación estaba regulada por un balance entre el inhibidor y el activador. Al suprimirse el inhibidor puede la semilla, si encuentra buenas condiciones germinar, este efecto del inhibidor puede eliminarse con tratamientos químicos y almacenado de las semillas.

2.2.6 Tipos de dormancia en semillas

La latencia también denominada por varios autores como dormancia, dormición, letargo, reposo o vida latente (Hernández, 2010) se clasifica en los siguientes tipos:

- a. *Dormancia física*: Se manifiesta cuando al final de las pruebas de germinación, queda una cantidad de semillas cuyo volumen y dureza no se modifican. La

impermeabilidad es adquirida al final de la maduración durante la desecación. Este tipo de latencia se pierde cuando el agua penetra a la semilla de manera natural, cuando hay fluctuaciones de temperatura y humedad en el suelo, abrasión, ataque de microorganismos, etc. De manera artificial se elimina con agua caliente, ácido sulfúrico y escarificación mecánica al raspar, quebrar o perforar las cubiertas.

- b. Dormancia química: Esta dormancia se debe a que la germinación es bloqueada por sustancias inhibitoras del crecimiento que se encuentran en la cubierta de la semilla. De ahí que para que las semillas germinen es necesario eliminar las sustancias inhibitoras presentes por medio de la separación de las cubiertas o lavado con agua corriente.
- c. Dormancia mecánica: Esta dormancia es causada por la dureza de la testa o cubierta de la semilla y el endospermo cuyos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión. Este efecto se elimina en forma natural por los ciclos de remojo y secado de la semilla. De manera artificial, se elimina por medio de la escarificación mecánica y química, mediante el empleo de ácido sulfúrico.
- d. Dormancia fisiológica: Las causas de esta dormancia se debe al bloqueo metabólico en el embrión ocasionado por la baja permeabilidad de la cubierta a los gases, baja actividad enzimática, producción de coenzimas y ácidos nucleicos, lo cual impide el crecimiento del embrión no permitiendo atravesar la cubierta. Este tipo de latencia en forma natural se elimina por estímulos ambientales, los cuales producen un indicador metabólico para la síntesis de promotores hormonales. De manera artificial se elimina con la estratificación mejor conocida como enfriamiento húmedo.
- e. Dormancia morfológica: Esta dormancia es ocasionada por la presencia de embriones rudimentarios, es decir por embriones que no han desarrollado completamente. Esta dormancia se elimina por medio de la escarificación cálida, a través del empleo de temperatura y humedad adecuada y con aplicaciones de ácido giberélico.

2.3 Tratamientos de escarificación para romper dormancia

Las semillas tanto de gramíneas como de leguminosas presentan baja germinación. Esta característica es un factor que limita su uso y establecimiento en campo. Sin embargo, esta limitante se puede mejorar mediante el empleo de tratamientos de escarificación previos a la siembra. Los tratamientos de escarificación que se utilizan para romper la dormancia de las semillas se clasifican en físicos y químicos. Entre los métodos para interrumpir la latencia en semillas pueden citarse a los siguientes: pregerminación, diferentes combinaciones de temperatura, solución de nitrato al 0.2%, ácido giberélico, prelavado y presecado, ácido sulfúrico, entre otros (Faria *et al.*, 1996).

A continuación se describen los métodos más conocidos y utilizados según Nikolaeva citado por Hernández (2010) y Alfaro (2015):

2.3.1 Escarificación mecánica

Consiste en raspar, quebrar o perforar las cubiertas de las semillas, ya sea en forma manual o con aparatos. En forma manual, en lotes pequeños, se pueden usar lijas, tenazas, martillos o agujas. Este método es sencillo y efectivo que implica pocos riesgos, a excepción de que las semillas queden expuestas al ataque de patógenos.

El desgaste o la ruptura de la cubierta seminal se puede lograr con la agitación de las semillas con algún material abrasivo como la arena o mediante raspado, también cortando la cubierta con un cuchillo.

2.3.2 Escarificación química

En este método de escarificación se utilizan diversas sustancias químicas, las cuales coadyuvan a incrementar los porcentajes de germinación. Principalmente se usan sustancias cáusticas como el ácido sulfúrico y sustancias hormonales como el ácido giberélico.

- a. Ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄): Cuando se utiliza ácido sulfúrico, las semillas se sumergen en el ácido en recipientes resistentes y la duración del tratamiento depende de la especie vegetal. Posteriormente se drena el ácido y las semillas se lavan en agua corriente. En leguminosas, el ácido sulfúrico debilita la

estructura de la testa permitiendo el ingreso del agua y oxígeno necesarios para el proceso de germinación. Sin embargo, es un método muy riesgoso, además, representa varios inconvenientes:

- Requiere de personal altamente calificado y de un equipamiento especial (piletas de inmersión, utensilios de laboratorio y grandes cantidades de agua).
- Tener en cuenta que los operarios tienen que contar con equipos de protección personal adecuados (botas de goma, mamelucos, delantales, gafas o protectores faciales, guantes largos, etc.), ya que los ácidos podrían provocarles quemaduras o lesiones.
- Una parte de las semillas se lesionan demasiado y pierden su viabilidad.
- Se debe considerar llevar adelante un protocolo adecuado de manejo del agua y de residuos tóxicos, ya que en esta técnica se utilizan grandes volúmenes.
- Este método es caro, causa del alto costo que tiene el ácido sulfúrico.

El ácido sulfúrico es uno de los métodos químicos más utilizados en semillas de leguminosas, ya que disuelve, agrieta y debilita las cubiertas de la testa, lo cual permite la entrada de agua e intercambio de gases, facilita la expansión del embrión y la salida de la radícula (Ramos, 1975). Su uso se extiende a niveles comerciales ya que disuelve por completo a la testa permitiendo el intercambio de agua y oxígeno necesarios en el proceso de germinación (Zulay *et al.*, 1998).

b. Agua, alcohol etílico y acetona: Dentro del método químico se plantea la aplicación de varias sustancias químicas que neutralizan o eliminan los inhibidores de la germinación, dentro de ellos el agua, el alcohol y la acetona permiten desechar los inhibidores que bloquean al metabolismo en las semillas, aumentando significativamente el porcentaje de germinación.

c. Sustancias hormonales: En este método, generalmente se utilizan las giberelinas, citoquininas, benziladenina y etileno. La dosis de los tratamientos hormonales se realiza en partes por millón (ppm) y la concentración depende de la especie de planta, estado de las cubiertas, método de aplicación, duración del tratamiento, temperatura y combinación de hormonas. El momento culminante es cuando la hormona entra al embrión. Entre las limitantes del uso de las sustancias

hormonales, están el alto costo y la dificultad para adquirirlas, además es necesario romper las cubiertas de las semillas para facilitar su penetración al embrión (Hernández, 2010).

2.4 Viabilidad

La viabilidad de las semillas es el periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un periodo variable y depende del tipo de semillas y de las condiciones de almacenamiento. Atendiendo a la longevidad de las semillas, es decir el tiempo que las semillas permanecen viables, pueden haber semillas que germinan todavía después de decenas o centenas de años; se da en semillas con una cubierta seminal dura como las leguminosas (Valdivia, 2015). El caso más extremo de retención de viabilidad es el de las semillas de *Nelumbo nucifera* encontradas en Manchuria con una antigüedad de unos 250 a 400 años. En el extremo opuesto tenemos a los que no sobreviven más de algunos días o meses, como es el caso de semillas de arce (*Acer*), sauces (*Salix*) y chopos (*Populus*) que pierden su viabilidad en unas semanas, o los olmos (*Ulmus*) que permanecen viables 6 meses (García *et al.*, 2006).

2.5 Germinación

Es definida como la emergencia y el desenvolvimiento de las estructuras esenciales del embrión, las cuales son la manifestación de su capacidad para dar origen a una plántula normal, en condiciones ambientales favorables. La germinación se expresa en porcentaje y número de semillas que producirán plántulas normales (Papalotla, 2002).

Peretti (1994) señala que la germinación es la reanudación de las actividades de crecimiento del embrión, suspendidas o disminuidas al momento de alcanzar la semilla su madurez fisiológica. Moreno (1984) define la germinación como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una plántula normal bajo condiciones favorables.

Mientras que, Copeland y McDonald (1992) definen a la germinación como la reactivación de los procesos fisiológicos del embrión, mediante una serie de reacciones metabólicas que sufren las semillas después de la imhibición.

Para que se inicie la germinación, la semilla tiene que absorber agua e hincharse, conociéndose este proceso como imbibición. Para que la semilla germine requiere de cierto intervalo de temperaturas, la temperatura mínima en semillas de kudzu varía de 15 a 20°C, con una óptima de 25 a 35°C (Hernández, 2010).

2.5.1 Factores que intervienen en la germinación

La germinación es una secuencia de eventos influenciada directamente por varios factores internos y externos que interactúan permanentemente.

Dentro de los factores externos, se encuentran principalmente la humedad, la temperatura, la luz, el oxígeno, el CO₂ y el sustrato (pH, nivel de salinidad, medio). Los internos que intervienen son los promotores e inhibidores de la germinación, la activación metabólica en general y la regulación genética particular (CATIE, 1996).

a. Factores externos

- *Humedad*: La absorción de agua es el primer paso, y el más importante, que tiene lugar durante la germinación; porque para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos. La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que la rodea. En condiciones normales, este potencial hídrico es menor en las semillas secas que en el medio exterior. Por ello, hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal; siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico. Aunque es necesaria el agua para la rehidratación de las semillas, un exceso de la misma actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión (García *et al.*, 2006).

Herrera *et al.* (2006) señala que en el proceso de absorción de agua podemos distinguir tres fases (Fig. 02):

- **Fase I: Imbibición**

Consiste en la absorción del agua necesaria para la rehidratación de proteínas y organelas celulares, así como para el transporte y para que ocurran las reacciones hidrolíticas.

- **Fase II: Activación de procesos metabólicos o germinación *sensu stricto***

En esta fase ocurre la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. También se incrementan las actividades enzimáticas, así como la degradación inicial de las reservas. A diferencia de la anterior, esta fase se caracteriza por un cese en la absorción de agua y una actividad metabólica más reducida.

- **Fase III: Emergencia de la radícula**

Es la última fase de la germinación y tiene lugar en la radícula (crecimiento visible), concluyendo el proceso germinativo, ya que el crecimiento subsecuente se considera un proceso separado.

La duración de cada una de las fases depende de ciertas propiedades de las semillas, como su contenido en compuestos hidratables y la permeabilidad de las cubiertas al agua y al oxígeno. Estas fases están afectadas por las condiciones del medio, como el nivel de humedad, las características y composición del sustrato, la temperatura, etc. Otro aspecto interesante es la relación de estas fases con el metabolismo de la semilla. La primera fase se produce tanto en semillas vivas y muertas y, por tanto, es independiente de la actividad metabólica de la semilla. Sin embargo, en las semillas viables, su metabolismo se activa por la hidratación. La segunda fase constituye un periodo de metabolismo activo previo a la germinación en las semillas viables o de inicio en las semillas muertas. La tercera fase se produce sólo en las semillas que germinan y obviamente se asocia a una fuerte actividad metabólica que comprende el inicio del crecimiento de la plántula y la movilización de las reservas. Por tanto, los factores externos que activan el metabolismo, como la temperatura, tienen un efecto estimulante en la última fase. En las dos primeras fases de la germinación los procesos son reversibles, a partir de la fase de crecimiento se entra en una situación fisiológica irreversible. La semilla que haya superado la fase de germinación tendrá que pasar a la fase de crecimiento y originar una plántula, o por el contrario morir (*García et al.*, 2006).

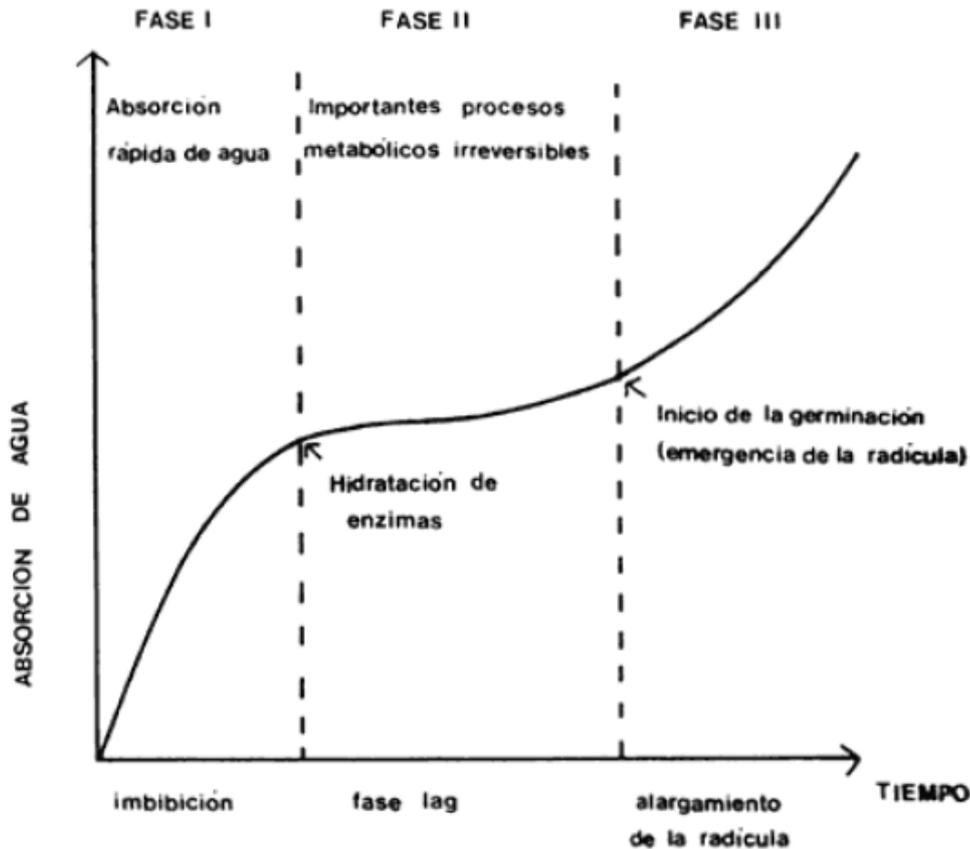


Figura 02. Curva del proceso de absorción de agua (Vázquez *et al.*, 1997)

- Temperatura: La temperatura es un factor decisivo en el proceso de germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Del mismo modo, en el proceso de germinación pueden establecerse unos límites similares. Por ello, las semillas solo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. Si la temperatura es muy alta o muy baja, la germinación no tiene lugar aunque las demás condiciones sean favorables. La temperatura mínima sería aquella por debajo de la cual la germinación no se produce, y la máxima aquella por encima de la cual se anula igualmente el proceso. La temperatura óptima, intermedia entre ambas, puede definirse como la más adecuada para conseguir el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible (García *et al.*, 2006). Los requerimientos de temperatura son especialmente importantes para la ruptura de los procesos de latencia; las semillas de climas templados requieren de temperaturas frías por periodos prolongados para iniciar la

germinación; mientras que en el caso de las semillas tropicales es común la necesidad de altas temperaturas para interrumpir el reposo (Herrera *et al.*, 2006).

- Oxígeno: El oxígeno es necesario como sustrato en las reacciones metabólicas importantes de la semilla, especialmente la respiración. Aunque en los primeros estadios de la germinación los procesos, tales como cuando la radícula rompe el tegumento, las reacciones son de carácter anaeróbico, posteriormente la germinación se hace totalmente dependiente del oxígeno. La disponibilidad de oxígeno también se afecta por otros factores como la temperatura, el grado de humedad, concentración de CO₂, dormancia y algunos hongos y bacterias (CATIE, 1996).
- Luz: La sensibilidad de las semillas a la luz es bastante variable de acuerdo a la especie. Algunas semillas se estimulan positivamente por la luz y otras negativamente. La respuesta de las semillas a la luz está ligada a una cromoproteína denominada “fitocromo”, pigmento responsable de atraparla. Básicamente el fitocromo es un sensor de señales del medio ambiente y fotorregulador, ya que capta, traduce y amplifica señales para la germinación. Actúa solo en semillas hidratadas, aunque esté presente en semillas secas, el agua induce a cambios conformacionales, hidrata la parte proteica del fitocromo y estimula la síntesis misma del fitocromo (CATIE, 1996). La importancia de la luz es notoria después de que la radícula ha salido, pues se necesita una intensidad lumínica relativamente alta para producir plántulas fuertes y vigorosas (Sierra, 2005).

b. Factores internos

La latencia o dormancia, así como las hormonas y sustancias inhibitoras no hormonales son controladores internos que regulan la germinación de las semillas y se ajustan a las condiciones medioambientales y metabólicas de la semilla (CATIE, 1996).

- Promotores de la germinación: Los principales promotores de la germinación son la giberelina (AG), el ácido indolacético (AIA) y las citoquininas, compuestos que están presentes en pequeñas cantidades en la semilla y su síntesis responde a sus características genéticas y respuestas específicas al medioambiente; por ejemplo el fitocromo 600 nm promueve la formación de giberelina y esta a su vez desencadena

la germinación (CATIE, 1996). En algunas semillas que requieren tanto periodos fríos como de luz para germinar, los niveles hormonales aumentan después de aplicar tratamientos adecuados de estos compuestos (García *et al.*, 2006).

- Giberelina: La giberelina estimula la germinación, su velocidad y a la vez que estimula el crecimiento de la plántula. La respuesta de esta hormona puede variar con cada especie (CATIE, 1996). Las giberelinas superan la latencia en semillas, actuando como sustitutos de bajas temperaturas, días largos o luz roja. En las semillas, uno de los efectos de las giberelinas es estimular la elongación celular, de manera que la radícula pueda empujar a través del endospermo, la cubierta seminal que restringe su crecimiento (Salisbury y Ross, 1994).
- Inhibidores de la germinación: Los inhibidores de la germinación de las semillas son sustancias químicas y pueden ser producidas o trasladadas a la semilla para bloquear el crecimiento del embrión (Courtis, 2013).
- Ácido abscísico (ABA): El desarrollo embrionario es dependiente del ABA. Este proceso se puede dividir en tres etapas: 1) mitosis y diferenciación celular, 2) expansión celular y acumulación de reservas (proteínas, grasas y almidón), y 3) maduración, proceso en el que las semillas se secan y pasan a un estado de dormición.

El ABA inhibe la germinación precoz y el viviparismo, es decir, porque no germinan o pueden no germinar precozmente en frutos húmedos en la planta madre. Aunque en las semillas existen varios mecanismos de latencia, hay diversos datos que indican que el ABA desempeña un papel importante en este proceso: 1) correlación entre las concentraciones bajas de ABA y la germinación precoz en cultivos de embriones, 2) el ABA exógeno impide la germinación de los embriones inmaduros de varias especies cuando se cultivan *in vitro*, 3) cuando más altos son los niveles de ABA endógeno, mayor es la sensibilidad al ABA y 4) mutantes deficientes en ABA presentan una fase de latencia más corta o germinan, incluso cuando se encuentren en el fruto. Además, la aplicación de un inhibidor de la biosíntesis del ABA (fluoridona) a semillas en desarrollo previene la latencia del embrión. Por lo tanto, el aumento de los niveles endógenos de ABA al final de la

embriogénesis está claramente relacionado con el inicio de la maduración y con la inhibición de la germinación precoz (Fig. 03). El ABA también reprime la expresión de muchos genes específicos de la germinación y puede originar o acelerar la formación de grupos esenciales de proteínas de reserva de la semilla en cultivos de embriones. Este hecho indica que el incremento normal de los niveles de ABA al principio y durante la etapa media del desarrollo de la semilla controla la acumulación de dichas proteínas de reserva. El efecto osmótico es también un factor importante en la latencia y el depósito de reservas en la semilla, aunque no está directamente mediado por el aumento de ABA (Azcon – Bieto y Talon, 2008).

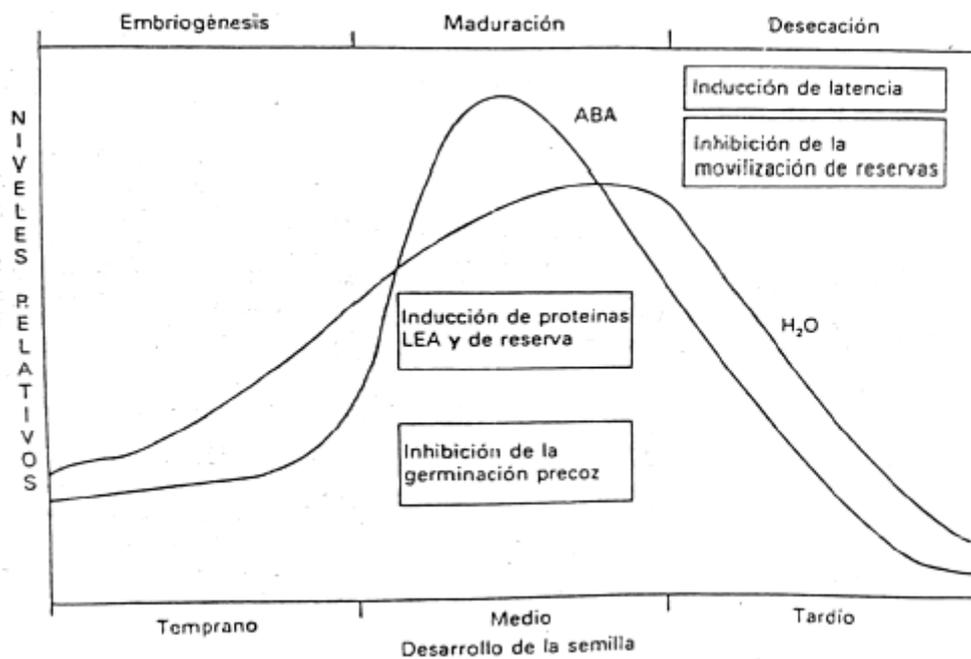


Figura 03. Niveles relativos de ABA y contenido hídrico durante el desarrollo de la semilla (Azcon-Bieto y Talon, 2008)

- Sustancias derivadas del metabolismo secundario de la planta: Compuestos orgánicos aromáticos (fenólicos, benzoicos, cofactores de AIA oxidasa, difenólicos) y compuestos derivados de las lactonas (cumarina, escopoletina, juglona).
- Inhibidor β (ácido abscísico + inhibidor): En especies tropicales y subtropicales, los inhibidores se encuentran en el pericarpio e inhiben la germinación en las estaciones secas. La eliminación manual del pericarpio o la lixiviación de los frutos

es suficiente para que se inicie la germinación de las semillas. En condiciones naturales, esto ocurre en las estaciones lluviosas. El efecto inhibitorio en la germinación se consigue también con la aplicación de reguladores de crecimiento, como el *ácido abscísico* o el *etileno* (Courtis, 2013).

- *Embrión fisiológicamente inmaduro*: Este tipo de latencia o dormancia se debe fundamentalmente a una disminución en la actividad enzimática de los embriones. En los cereales, este tipo de latencia es frecuente, impidiendo que las semillas germinen luego de cosechadas, aunque el embrión esté perfectamente formado y durante el almacenaje en sitio seco van perdiendo esta dormición, lo que convierte a esta latencia en un carácter fitotécnico deseable. El periodo de duración de latencia puede variar desde algunas semanas hasta varios meses, de ahí que existen cultivares que germinan en planta (vivíparos) y otros permanecen inalterables aún en condiciones adecuadas para la germinación. Existen métodos artificiales para romper esta latencia, por ejemplo métodos térmicos y químicos (Courtis, 2013).

- *Presencia de tegumentos duros*: Muchas plantas producen semillas cuyo tegumento externo es duro impermeable al agua o a los gases, e incluso el micrópilo está provisto de una barrera que impide la penetración de agua al embrión (Vázquez *et al.*, 1997).

Courtis (2013) señala que los tegumentos pueden ser duros por las siguientes razones:

- Impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas, sustancias pécticas insolubles (leguminosas).
- Impermeabilidad al oxígeno por presencia de fenoles sustancias ávida de O₂ que lo atrapan y no permiten que llegue al embrión (*Xanthium*).
- Resistencia mecánica a la expansión del embrión por contener un estrato de esclereidas con paredes secundarias muy lignificadas (*Brassica*).
- Impedimento a la difusión de los inhibidores fuera de la semilla (*Guayule*).

En tales casos, para romper el letargo de las semillas debido a los tegumentos duros, se puede recurrir a diferentes métodos ya sean mecánicos o químicos. En la naturaleza esto se produce por la abrasión de las partículas de arena, la acción de insectos y/o microorganismos, las alternancias térmicas marcadas o el pasaje por el aparato digestivo de animales y aves que presentan sustancias ácidas (Courtis, 2013).

2.5.2 Tipos de germinación

Los cambios fisiológicos y metabólicos que se producen en las semillas, no latentes, después de la inhibición de agua tienen como finalidad el desarrollo de la plántula. Este proceso comienza por la radícula, que es el primer órgano que emerge a través de las cubiertas. Sin embargo, en otras semillas el crecimiento comienza por el hipocótilo. Las semillas, atendiendo a la posición de los cotiledones respecto a la superficie del sustrato, pueden diferenciarse en la forma de germinar (García (a) (b), 2003).

Jara (1996) nos dice que podemos distinguir dos tipos diferentes de germinación (Fig. 04):

- a. Germinación hipogea: En la mayoría de las especies, los cotiledones permanecen sobre o bajo el suelo. El punto de crecimiento (epicotilo) que está sobre los cotiledones comienza a crecer rápidamente formando un brote que termina en hojas rudimentarias (plúmula). La plúmula se dobla hacia atrás mientras que el brote sale del suelo, pero eventualmente se vuelve hacia la luz y forma las primeras hojas de la plántula. Durante este periodo, los nutrientes de los cotiledones son absorbidos hasta secarse. Luego, la plántula se nutre por sí sola mediante la raíz y las hojas verdes con capacidad de fotosíntesis.

- b. Germinación epigea: En otras especies, el hipocotilo comienza a crecer rápidamente una vez que la radícula está suficientemente desarrollada. Esto generalmente hace que brote un arco fuera del suelo. El hipocotilo se hace más fuerte y los cotiledones se expanden, se vuelven verdes y comienzan a funcionar como hojas. Durante este tiempo, la cubierta de la semilla se cae. Poco después el epicotilo comienza a crecer y la plúmula se desarrollará para producir las primeras hojas verdaderas. Si la semilla tiene un endosperma, este es absorbido por los cotiledones durante el crecimiento inicial.

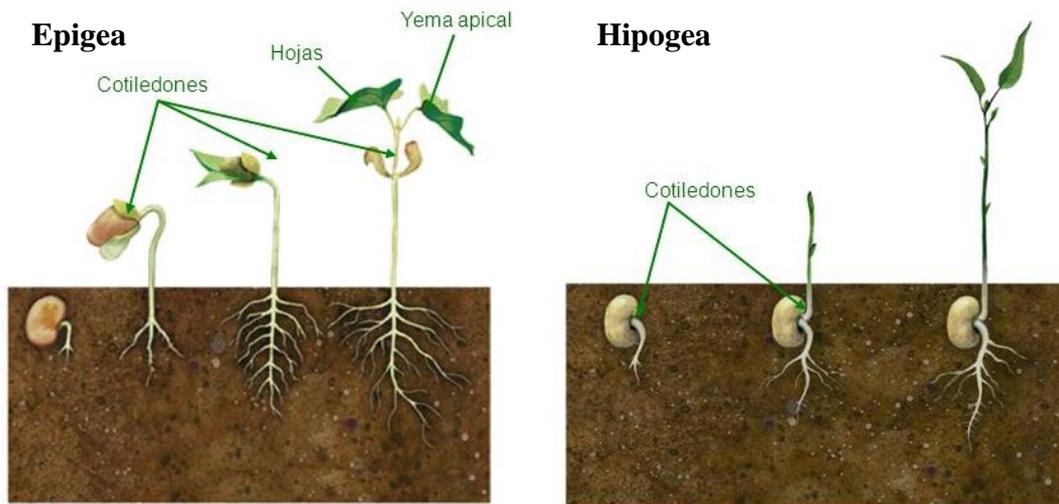


Figura 04. Germinación epigea e hipogea (Jara, 1996)

2.5.3 Estructuras esenciales de las plántulas

Una plántula, dependiendo de la especie ensayada, consta de una combinación específica de alguna de las siguientes estructuras esenciales (Fig. 05, 06) para su desarrollo posterior (SENASA, 2007):

- a. Sistema radicular (raíces primarias, en ciertos casos raíces seminales).
- b. Eje del brote (hipocotilo, epicotilo; en ciertos casos Poaceae [Gramineae] mesocotilo; yema apical).
- c. Cotiledones (uno o varios).
- d. Coleoptilo (en todas las Poaceae [Gramineae]).

Dicotiledóneas

- 8 Cotiledones.
- 16 Epicotilo.
- 20 Hipocotilo.
- 37 Pecíolo.
- 42 Hojas primarias.
- 43 Raíz primaria.
- 47 Hojuelas.
- 50 Raíces secundarias.
- 57 Yema terminal.

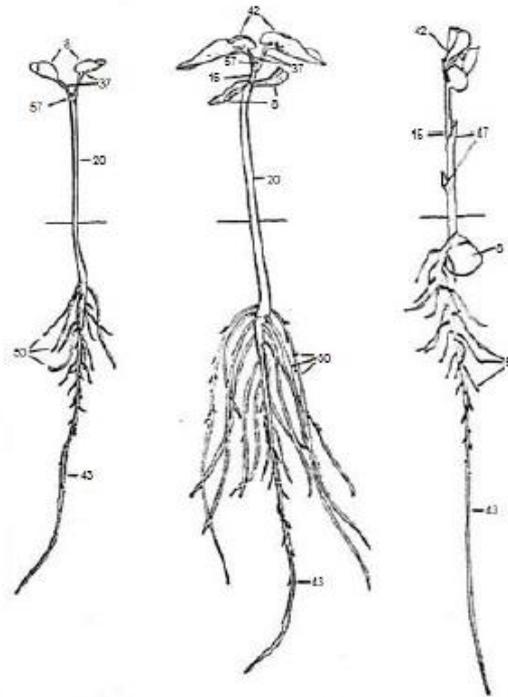


Figura 05. Estructuras esenciales de una plántula dicotiledónea (Bekendam y Grob, 1980)

Monocotiledóneas

- 1 Raíces adventicias.
- 5 Coleóptilo.
- 8 Cotiledón.
- 24 Raíces laterales.
- 29 Mesocotilo.
- 42 Hoja primaria.
- 43 Raíz primaria.
- 50 Raíz secundaria.
- 52 Raíces seminales.

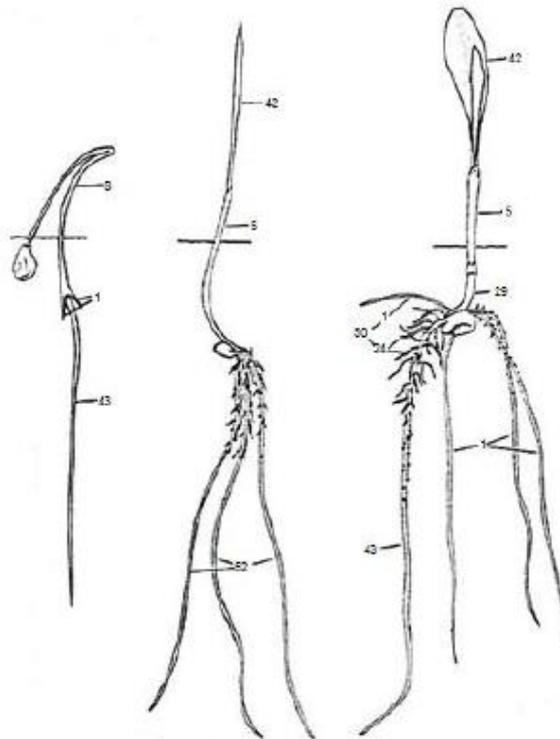


Figura 06. Estructuras esenciales de una plántula monocotiledónea (Bekendam y Grob, 1980)

2.5.4 Categorías de plántulas y semillas de germinación en un ensayo.

- a. Plántulas normales: Las plántulas normales son aquellas que muestran potencial para su desarrollo en plantas normales, cuando crecen en los suelos de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz (SENASA, 2007).
- b. Plántulas anormales: Las plántulas anormales son todas aquellas que no se pueden clasificar como normales por tener alguna deficiencia en el desarrollo de sus estructuras esenciales, que les impide su desarrollo normal cuando crecen en suelo preparado y bajo condiciones favorables de humedad, luz y temperatura (Moreno, 1984).
- c. Semillas no germinadas: Las semillas que no han germinado al final del ensayo cuando han sido ensayadas bajo las condiciones dadas en los métodos específicos para cada especie, se clasifican de la siguiente manera:
 - Semillas duras: Semillas que permanecen duras al final del periodo de ensayo, porque no han absorbido agua, debido a la impermeabilidad de la cubierta. La dureza es una forma de latencia.
 - Semillas frescas o latentes: Semillas distintas de semillas duras, que no han germinado bajo las condiciones del ensayo de germinación, pero que permanecen sanas y firmes y tienen el potencial para desarrollarse en una plántula normal. Las semillas frescas pueden embeberse de agua cuando se les proporciona las condiciones establecidas, pero el proceso de germinación está bloqueado.
 - Semillas muertas: Semillas que al final del periodo del ensayo no son ni duras ni frescas ni han producido ninguna estructura de la plántula. Las semillas muertas normalmente están blandas, decoloradas, frecuentemente enmohecidas.
 - Otras categorías: En algunas circunstancias o para determinados grupos de especies, semillas vacías y no germinadas podrían clasificarse en otras categorías:

- Semillas vacías: Semillas que están completamente vacías o contienen solamente tejido residual.
- Semillas sin embrión: Semillas que contienen endospermo fresco o tejido gametofítico en el cuál no hay, aparentemente, cavidad embrional ni embrión.
- Semillas dañadas por insectos: Semillas que contienen larvas, restos o excrementos de insectos, o bien presentan otras evidencias de ataques que afectan la capacidad de las semillas para germinar.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Lugar de experimentación

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Semillas del Departamento Académico de Fitotecnia de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina ubicado en el distrito de La Molina, provincia de Lima, región Lima con la siguiente ubicación geográfica:

Latitud	: 12° 05' 06" S
Longitud	: 76° 57' 65" O
Altitud	: 237 msnm

3.1.2 Equipos y materiales

a. Equipos

- Cabina de germinación Seedburo
- Cámara digital
- Cronómetro

b. Materiales

- Semillas de kudzu LEGUM 01 – 01 – 2015 de SAIU EXPORT SAC
- Papel toalla
- Agua destilada
- Beakers de 50 ml de capacidad para la aplicación de ácido sulfúrico y nitrato de potasio
- Placas Petri
- Guantes de seguridad
- Lentes de protección
- Lija de agua
- Ácido sulfúrico al 98%
- Nitrato de potasio al 0.2%

3.1.3 Variables estudiadas

- Porcentaje de plántulas normales (PPN)
- Porcentaje de semillas no germinadas (SNG)
- Porcentaje de germinación fisiológica (PG)

3.1.4 Medición de las variables

- **Porcentaje de plántulas normales (PPN):** Es el número de plántulas consideradas como normales de acuerdo a los criterios de evaluación (ISTA, 1993, 2004, 2007). Se calculó por repetición.
- **Porcentaje de semillas no germinadas (SNG):** Es el número de semillas no germinadas (duras, frescas y muertas) por repetición (ISTA, 1993, 2004, 2007).
- **Porcentaje de germinación fisiológica (PG):** Es número de semillas germinadas en relación al número total de semillas en prueba por cien (Herrera *et al.*, 2006; Vásquez *et al.*, 1997). Se calcula con la siguiente ecuación:

$$PG = [Gn/Nn] \times 100$$

Donde:

Gn = Número de semillas germinadas

Nn = Número de total de semillas en prueba

3.1.5 Tratamientos

Los tratamientos aplicados para superar la latencia de las semillas de kudzu (*Pueraria phaseoloides*) fueron las siguientes:

- **Ácido sulfúrico al 98%**
- **Nitrato de potasio al 0.2%**
- **Ácido sulfúrico al 98% + nitrato de potasio al 0.2%**
- **Agua**
- **Escarificación mecánica (lija)**
- **Testigo (sin ningún tratamiento)**

3.2 Métodos

3.2.1 Procedimientos

Las pruebas de germinación se realizaron con 400 semillas de kudzu (*Pueraria phaseoloides*) colocadas entre papel a 25°C de temperatura constante por un espacio de 10 días, haciendo el primer conteo al cuarto día (ISTA, 1993, 2004, 2007).

- **Escarificación química con ácido sulfúrico al 98%**

Las semillas fueron sumergidas en 14 ml de ácido sulfúrico al 98% de concentración durante 15 minutos y enseguida fueron lavadas con agua destilada por 5 minutos y secadas bajo sombra (García *et al.*, 1992).

- **Escarificación química con nitrato de potasio al 0.2%**

La solución se preparó disolviendo 2 gramos de KNO₃ en 1 litro de agua destilada. El papel fue humedecido con esta solución al inicio de la prueba (ISTA, 1993, 2004, 2007).

- **Escarificación química con ácido sulfúrico + nitrato de potasio**

El método consistió en combinar las dos técnicas anteriores, siguiendo los mismos procedimientos.

- **Remojo en agua**

Las semillas se colocaron en agua fría por 24 horas (Hernández, 2010).

- **Escarificación mecánica**

Se utilizó una lija de agua para raspar 400 semillas de kudzu (*Pueraria phaseoloides*) con la finalidad de reducir el volumen de la testa de la semilla que luego fue usada en el ensayo de germinación.

- **Testigo**

La semilla no recibió tratamiento alguno (químico ni mecánico). Esta semilla mantuvo su testa intacta.

3.2.2 Ensayo de germinación

Los requerimientos para los ensayos de germinación de *Pueraria phaseoloides* fueron tomados de las normas ISTA (1993, 2004, 2007).

- Una muestra de 2400 semillas fueron tomadas al azar.
- La muestra fue dividida en 6 grupos para obtener 4 repeticiones de 100 semillas cada uno.
- Las semillas se colocaron con una adecuada separación sobre el papel toalla totalmente húmedo en cada repetición.
- Finalmente, cada papel húmedo con las semillas fue enrollado y los cuatro rollos se colocaron en envases de plástico con tapa, y estas a su vez se pusieron dentro de una cámara de germinación.

El papel toalla se mantuvo húmedo durante los 10 días que duró el ensayo. La temperatura dentro de la cabina fue de 25°C de manera constante (ISTA, 1993, 2004, 2007, así como también se reguló automáticamente la iluminación artificial dentro de la cabina las 24 horas, lo que facilitó la evaluación ya que dicha luz produjo un mejor desarrollo de plántulas.

Se realizó una primera evaluación a los 4 días para permitir la detección de plántulas normales, tal como lo establece ISTA (1993, 2004, 2007). Al finalizar la prueba se llevó a cabo la segunda evaluación donde se encontraron plántulas normales y anormales, semillas frescas, duras, y muertas.

3.3 Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental completamente al azar (**DCA**) con seis tratamientos y cuatro repeticiones, dando un total de 24 unidades experimentales.

3.3.1 Especificaciones del diseño

Las especificaciones del diseño para la escarificación son las siguientes (Cuadro 01):

Cuadro 01. Especificaciones de los tratamientos aplicados a las semilla de kudzu
(Pueraria phaseoloides)

Código	Tratamiento	Descripción	Tiempo de inmersión
T ₁	(AS)	Semillas de kudzu + solución de ácido sulfúrico (98%)	15 minutos
T ₂	(NP)	Semillas de kudzu + solución de nitrato de potasio (0.2%)	-----
T ₃	(AS + NP)	Semillas de kudzu + solución nitrato de potasio (0.2%) + solución de ácido sulfúrico (98%)	15 minutos
T ₄	(H ₂ O)	Semillas de kudzu + agua.	24 horas
T ₅	(Con Lija)	Semillas de kudzu sin testa	25 minutos
T ₆	(Testigo)	Semillas de kudzu sin tratamiento	-----

Fuente: Elaboración propia

3.3.2 Modelo estadístico

El modelo matemático del diseño está representado por la siguiente ecuación lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \Gamma_i + \epsilon_{ij} \quad i = 1, \dots, t \quad j = 1, \dots, \Gamma_i$$

Donde:

a. Porcentaje de plántulas normales:

Y_{ij} es el porcentaje de plántulas normales obtenida en la j-ésima semilla de kudzu con él i-ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

μ es el efecto de la media general del porcentaje de plántulas normales.

Γ_i es el efecto del i-ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

E_{ij} es el efecto del error experimental con la j -ésima semilla de kudzu con el i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

b. Porcentaje de semillas no germinadas:

Y_{ij} es el porcentaje de semillas no germinadas obtenidas en la j -ésima semilla de kudzu con el i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

μ es el efecto de la media general del porcentaje de semillas no germinadas.

I_i es el efecto del i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

E_{ij} es el efecto del error experimental con la j -ésima semilla de kudzu con el i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

c. Porcentaje de germinación fisiológica:

Y_{ij} es el porcentaje de germinación fisiológica obtenida en la j -ésima semilla de kudzu con el i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

μ es el efecto de la media general del porcentaje de germinación fisiológica obtenida.

I_i es el efecto del i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

E_{ij} es el efecto del error experimental con la j -ésima semilla de kudzu con el i -ésimo tratamiento (ácido sulfúrico – nitrato de potasio – ácido sulfúrico + nitrato de potasio – agua – testigo).

Hipótesis estadística:

Hipótesis nula (Ho):

Ho: $\sum t_i = 0$ Los efectos de los tratamientos no difieren significativamente.

Hipótesis alternante (Ha):

Ha: $\sum t_i \neq 0$ Al menos uno de los tratamientos difieren significativamente.

Para los errores, se supone que se ajustan a la curva normal con $\mu = 0$ y δ^2 desconocida.

3.3.3 Análisis de variancia (ANVA)

El esquema del análisis de variancia para este ensayo se detalla en la cuadro 02:

Cuadro 02. Análisis de variancia (ANVA)

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	
Tratamientos	$t - 1$	5
Error Experimental	$t (r - 1)$	18
Total	$tr - 1$	23

Fuente: Elaboración propia

3.3.4 Prueba de significación

Para la comparación de medias de tratamientos se empleó la prueba de Tukey con un nivel de significación del 5%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Porcentaje de plántulas normales

El análisis nos indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos con un coeficiente de variabilidad de 11.01 por ciento (Cuadro 03). Esto significa que los distintos métodos para superar la latencia en semillas de kudzu resultan eficaces para especies, como las leguminosas, que presentan tegumentos duros que producen impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas y sustancias pécticas insolubles, tal como lo señala Courtis (2013). Según Forero (2002), las semillas de *Pueraria phaseoloides* son duras. Bajo condiciones naturales, esta impermeabilidad decrece gradualmente (de Morais et al., 2014). Es importante señalar que esta semilla fue cosechada el 2015 y las pruebas se realizaron el 2016.

Cuadro 03. Análisis de variancia para el porcentaje de plántulas normales

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	S.C	CM	FC	Pr > F
Tratamientos	5	1654.500	330.900	17.73	< 0.0001
Error Experimental	18	336.000	18.667		
Total	23	1990.500			
CV (%)	11.01				

Fuente: Elaboración propia

En la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 0.05 para el porcentaje de plántulas normales. En el cuadro 04 se puede observar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T3; sin embargo el que presenta la mejor media es el T1 con ácido sulfúrico (Fig. 07). Este último es recomendado por el ISTA (1993, 2004, 2007) como el pretratamiento para remover la cubierta dura en kudzu. Según el Anexo 04, el porcentaje de germinación del lote LEGUM 01 – 01 – 2015 fue de 42% en el ensayo realizado en el Laboratorio de Semillas en febrero del 2016 con el pretratamiento remojo en agua por 24 horas y colocado a 32°C por espacio de 21 días. En el trabajo realizado por de Morais et al. (2014), el porcentaje de germinación alcanzado por la semilla de kudzu fue de 47% con la aplicación de ácido sulfúrico al 98% por cinco minutos, 42% con la escarificación mecánica (lija) y 21% con nitrato de

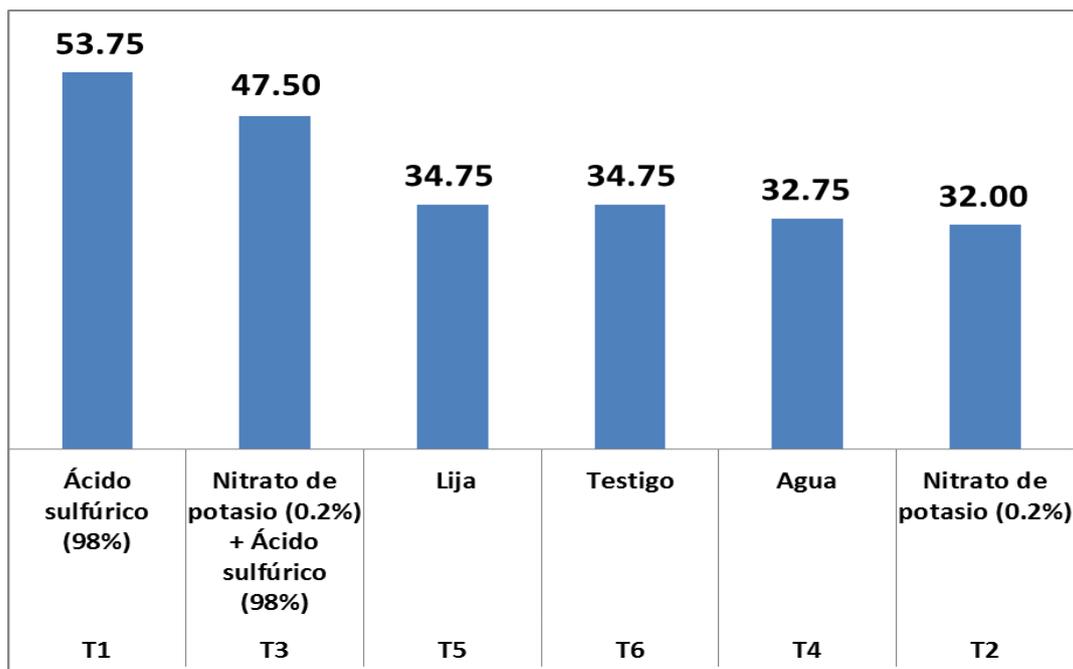
potasio al 0.2%. Las medias de los tratamientos con ácido sulfúrico y lija mostraron diferencias estadísticas con respecto al uso de nitrato de potasio (de Morais et al., 2014). Por su parte, el nitrato de potasio es el método para superar la latencia fisiológica, pues es la que causa el bloqueo metabólico en el embrión ocasionado justamente por la baja permeabilidad de la cubierta a los gases, baja actividad enzimática, producción de enzimas y ácidos nucleicos, lo cual impide el crecimiento del embrión no permitiendo atravesar la cubierta (Hernández, 2010). En cambio, el ácido sulfúrico contribuye a eliminar la dureza del tegumento de las semillas de leguminosas (Perez citado por de Morais et al., 2014), ya que esta se debe principalmente a la capa de células en palisada, cuyas paredes celulares son gruesas y están cubiertas de una cutícula cerosa (de Morais et al., 2014).

Cuadro 04. Comparación para el porcentaje de plántulas normales

Código	Tratamiento	Tiempo de inmersión	Porcentaje de plántulas normales
T ₁	Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	53.75 ^a
T ₃	Nitrato de potasio (0.2%) + Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	47.50 ^a
T ₅	Lija	25 minutos	34.75 ^b
T ₆	Testigo	-----	34.75 ^b
T ₄	Agua	24 horas	32.75 ^b
T ₂	Nitrato de potasio (0.2%)	-----	32.00 ^b

a, b (Significancia a partir de la prueba de Tukey)

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Figura 07. Media de tratamientos expresados en plántulas normales

4.2 Porcentaje de semillas no germinadas

El análisis nos indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos con un coeficiente de variabilidad de 8.0 por ciento (Cuadro 05). Esto significa que los distintos métodos para superar la latencia en semillas de kudzu no resultan ser eficaces, dado que los tratamientos mecánicos y químicos pueden favorecer o perjudicar la germinación de semillas, esto va a depender de la especie de semilla (García *et al.*, 1992).

En la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 0.05 para el porcentaje de semillas no germinadas. En el cuadro 06 se puede observar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos T₂ y T₄; sin embargo el que presenta la mejor media es el T₂ con nitrato de potasio al 0.2% (Fig. 08). Este último fue observado por Carvalho y Nakagawa (1983), quienes informaron que en la mayoría de los casos el nitrato de potasio no actúa efectivamente en la superación de dormancia, esto ocurre en semillas de gramíneas y leguminosas, dado que en sus cubiertas hay la presencia de sustancias fijadoras de oxígeno en el complejo película – pericarpo (compuestos fenólicos), que inhiben la germinación. Por su parte, el agua, puede ser un causante de muerte de semillas debido a un remojo prolongado de estas, dado que la inhibición impide la

aireación y la semilla muere por asfixia o bien por la exosmosis (difusión u osmosis del interior hacía afuera a través de las paredes) de enzimas y nutrimentos (Niembro, 1979).

Cuadro 05. Análisis de variancia para el porcentaje de semillas no germinadas

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	S.C	CM	FC	Pr > F
Tratamientos	5	2698.708	539.741	31.83	< 0.0001
Error Experimental	18	305.250	16.958		
Total	23	3003.958			
CV (%)	8.0				

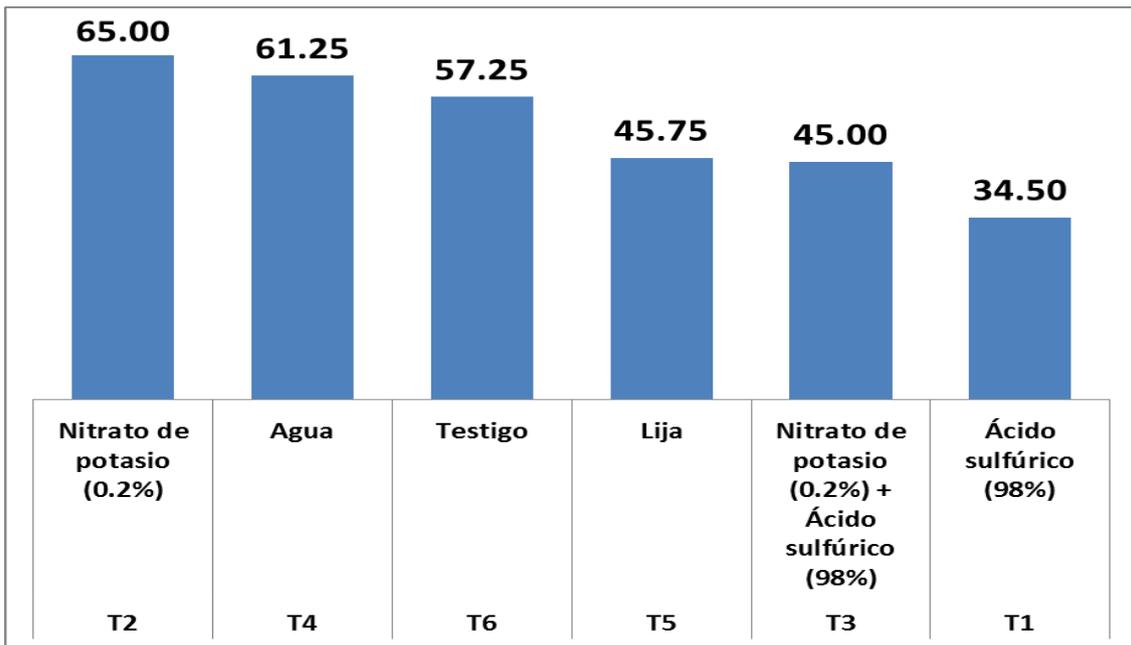
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 06. Comparación para el porcentaje de semillas no germinadas

Código	Tratamiento	Tiempo de inmersión	Porcentaje de semillas no germinadas
T ₂	Nitrato de potasio (0.2%)	-----	65.00 ^a
T ₄	Agua	24 horas	61.25 ^a
T ₆	Testigo	-----	57.25 ^a
T ₅	Lija	25 minutos	45.75 ^b
T ₃	Nitrato de potasio (0.2%) + Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	45.00 ^b
T ₁	Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	34.50 ^c

a, b (Significancia a partir de la prueba de Tukey)

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Figura 08. Media de tratamientos expresados en semillas no germinadas

4.3 Porcentaje de germinación fisiológica

El análisis nos indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos con un coeficiente de variabilidad de 8.48 por ciento (Cuadro 07). Esto significa que los distintos métodos para superar la latencia en semillas de kudzu resultan eficaces para especies, como las leguminosas y otras especies que presentan tegumentos duros que producen impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas y sustancias pécticas insolubles, tal como lo señala Loiza (1979).

En la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 0.05 para el porcentaje de germinación fisiológica. En el Cuadro 08 se puede observar que existen diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el T₁ el que presenta la mejor media (Fig. 09). Con este resultado se confirma lo comentado por Francis (1990), que sugiere para pruebas de germinación la escarificación de las semillas mediante muescas o el baño en ácido sulfúrico concentrado para aumentar el porcentaje y reducir el tiempo de germinación. Además, estos resultados concuerdan con los publicados por Pietrosevoli y Mendiri (1997), quienes reportan como mejor método de escarificación al H₂SO₄ por 5 y 8 minutos en *Clitorea ternatea* obteniendo valores de germinación de 59 y 53%, respectivamente.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, permite abrir perspectivas para otros ensayos, como por ejemplo, la prueba de otros productos, con otras dosificaciones y combinaciones, con la finalidad de superar la latencia en la semilla de kudzu.

Cuadro 07. Análisis de variancia para el porcentaje de germinación fisiológica

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	S.C	CM	FC	Pr > F
Tratamientos	5	2698.708	539.742	31.83	< 0.0001
Error Experimental	18	305.250	16.958		
Total	23	3003.958			
CV (%)	8.48				

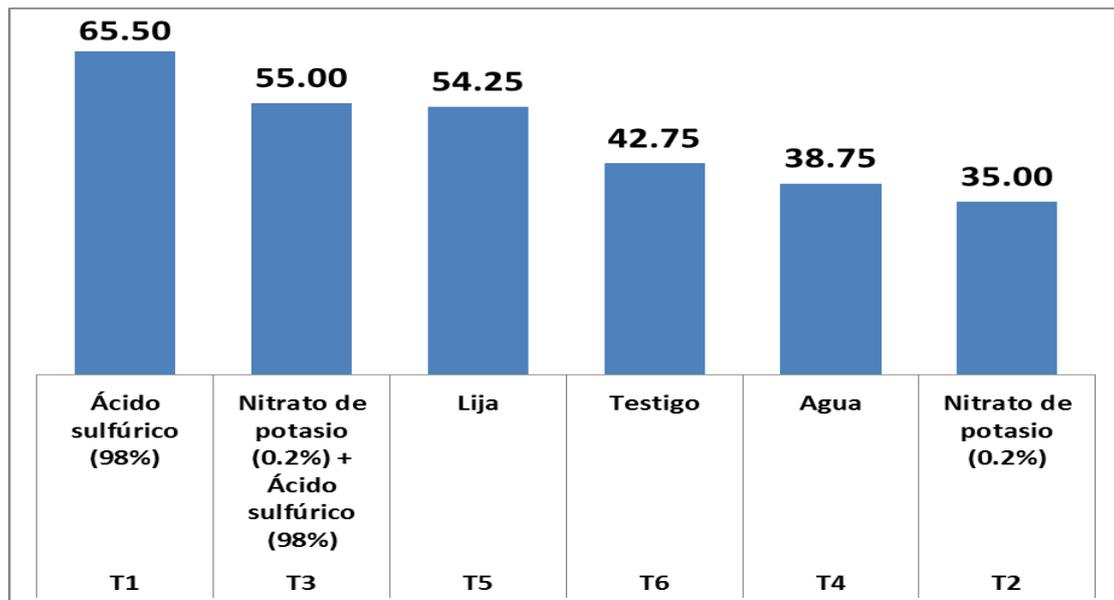
Fuente: Elaboración propia

Cuadro 08. Comparación para el porcentaje de germinación fisiológica

Código	Tratamiento	Tiempo de inmersión	Porcentaje de germinación fisiológica
T ₁	Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	65.50 ^a
T ₃	Nitrato de potasio (0.2%) + Ácido sulfúrico (98%)	15 minutos	55.00 ^b
T ₅	Lija	25 minutos	54.25 ^b
T ₆	Testigo	-----	42.75 ^c
T ₄	Agua	24 horas	38.75 ^c
T ₂	Nitrato de potasio (0.2%)	-----	35.00 ^c

a, b (Significancia a partir de la prueba de Tukey)

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Figura 09. Media de tratamientos expresados en porcentaje de germinación fisiológica

V. CONCLUSIONES

1. La dormancia física impuesta por la cubierta de la semilla fue superada por los tratamientos pregerminativos (escarificación), los cuales garantizaron una óptima forma para reducir el tiempo y aumentar el porcentaje de germinación.
2. La escarificación química mediante el empleo de ácido sulfúrico resultó satisfactorio en la ruptura de la testa de la semilla de kudzu facilitando la penetración del agua hasta el embrión de la semilla.
3. El empleo de ácido sulfúrico más nitrato de potasio al 0.2% por 15 minutos fue tan eficiente como el empleo de ácido sulfúrico al 98%, presentando resultados similares estadísticamente. Sin embargo, esta combinación no aporta nada nuevo a la superación de la latencia.
4. La escarificación química mediante el empleo de nitrato de potasio al 0.2% no es recomendable para superar la latencia por no presentar resultados estadísticamente similares al ácido sulfúrico.
5. El pretratamiento para superar la latencia en la prueba de germinación de semillas de kudzu propuesto por ISTA (1993, 2004, 2007) ha sido comprobado en este trabajo de investigación.

VI. RECOMENDACIONES

1. Es recomendable continuar con este tipo de estudios a fin de encontrar otras alternativas que permitan obtener mejores resultados en la superación de latencia en semillas de kudzu en el Perú.
2. Se recomienda tener cuidado con el tiempo de inmersión de las semillas en el ácido sulfúrico y en el nitrato de potasio, así como también en el agua, dado que es posible el ingreso o presencia de hongos que pueden ocasionar pudriciones en la germinación de la semilla de kudzu.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alfaro C., P.F. 2015. Método de escarificación en la germinación de semillas de kudzu (*Pueraria phaseoloides*). Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador. Páginas: 7 – 10.
2. APG III. 2009. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: *APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161*. Pages: 105 – 121.
3. APG IV. 2016. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: *APG IV. Bot. J. Linn. Soc. 181 (1)*. Pages: 1 – 20.
4. Aragao W, M y Costa BM, DA. 1983. Evaluación de métodos de escarificación en la germinación de semillas de *Centrosema pubescens*. Aracaju – SE, Brasil. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. Comunicado Técnico N° 6*. Página 3.
5. Arias A, R. 1986. Reseña sobre el kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides* (**Roxb**) **Benth**). Turrialba, Costa Rica. *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza*. Páginas: 5 – 6.
6. Azcon – Bieto, J y Talon, M. 2008. Fundamentos de la fisiología vegetal. Editorial Mc Graw Hill Interamericana de España. Página 456.
7. Bekendam, J y Grob, R. 1980. Manual para la evaluación de plántulas en análisis de germinación. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Viveros. Estación de Ensayo de Semillas. España. Páginas: 6, 38-40.
8. Cabrales, R R A. 1975. Establecimiento de las leguminosas de kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides* (**Roxb**)) y campanita azul (*Clitoria ternatea*) en potreros establecidos de pasto pará o admirable (*Brachiaria mutica*). In Reunión del Programa de Pastos y Forrajes y curso de Metodología de Investigación, 3a, Cali y

- Bogotá. *IICA. Informes de Conferencias, Cursos y Reuniones N° 65*. Páginas 21 – 22.
9. Carambula, M. 1984. Producción de semillas de plantas forrajeras. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo, Uruguay. Página 513.
 10. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1996. Recolección y manejo de semillas forestales. Curso para profesores “Mejoramiento genético, selección y manejo de fuentes semilleras y de semillas forestales”. Costa Rica. Páginas: 71 – 73.
 11. Carvalho, N. M. y Nakagawa, J. 1983. Sementes: Ciência, tecnologia e produção. Campinas. Fund. Cargill, 2da Edición. Página: 429.
 12. Chase, M. W. y Reveal, J. L. 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany. *APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161*. Pages: 122 – 127.
 13. Chee, YK y Tan, GK. 1982. Pre – treatment of legume cover crop seeds. *Planters’ Bulletin N° 170*. Páginas: 10 – 13.
 14. Cid, L P B. 1983. Temperatura e cor do tegumento, dois fatores relacionados con germinacao de kudzu tropical. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira 18 (8)*. Páginas: 943 – 945.
 15. Copeland L, O y McDonald M, B. 1992. Principles of seed science and technology. Second Edition. Burgerss Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA. Página 50.
 16. Contreras M., C. 2012. Digestibilidad y energía digestible de cinco leguminosas forrajeras tropicales y uso de la harina de maní forrajero (*Arachis pintoi* L.) en la alimentación de cuyes. Lima, Perú. Páginas: 4 – 5.
 17. Courtis, A. 2013. Germinación de las semillas. Argentina. *Guía de estudios de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Cátedra de Fisiología Vegetal*. Páginas: 16 – 18.

18. Cuibin Y, R. 2011. Determinación de la digestibilidad y energía digestible de la harina de kudzu (*Pueraria phaseoloides*) en el cuy (*Cavia porcellus*). Lima, Perú. Páginas: 10 – 11.
19. D' Aubeterre R., Principal J., García J. 2002. Efecto de diferentes métodos de escarificación sobre la germinación de tres especies del género *Prosopis genera*. Lara, Venezuela. *Revista Científica Vol. XII – Suplemento 2, Octubre 2002*. Páginas: 575 – 577.
20. Faria, J; García, AL y González, B. 1996. Efecto de métodos químicos de escarificación sobre la germinación en seis gramíneas forrajeras tropicales. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) (13)*. Páginas: 387 – 393.
21. Febles, G. 1985. Factores que afectan la germinación y factores recurrentes antes de la siembra. Cuba. Instituto de Ciencias Agrícolas. Página: 7.
22. Forero B, A. 2002. Pastos y forrajes. En: Manual agropecuario, tecnologías orgánicas de la granja integral autosuficiente. Biblioteca del campo. Fundación hogares juveniles campesinos. Editorial Lexus. Bogotá, Colombia. Páginas: 867 – 870.
23. Francis, J. 1990. *Hymenaea courbaril* L. Algarrobo. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. Page: 279 – 283.
24. García, F; Roselló, J y Santamarina, P. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial Universidad Politécnica de Valencia, España. Páginas 158, 163 – 169.
25. García, F. 2003. (a) Germinación de semillas. Documento de la Universidad Politecnica de Valencia. Fecha de consulta: 09 de Noviembre del 2016. Disponible en: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm
26. García F. 2003. (b) Latencia en yemas y semillas. Documento de la Universidad Politécnica de Valencia. Fecha de consulta: 09 de Noviembre del 2016. Disponible en: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_16.htm#Latenciadesemillas

27. García, J y Cícero, S M. 1992. Superación de dormancia en semillas de *Brachiaria brizantha* cv. **Marandu**. Piracicaba - San Pablo, Brasil. *Sciencia Agricola. Piracicaba – SP, 49 (1), 1992*. Páginas: 9 – 13.
28. Haston, E.; Richardson, J. E.; Stevens, P. F.; Chase, M. W. y Harris, D. J. 2009. The linear angiosperm phylogeny group (LAPG) III: a linear sequence of the families in *APG III*. *Bot. J. Linn. Soc. 161*. Pages: 128 – 131.
29. Hernández F, E. 2010. Métodos de escarificación y prueba de envejecimiento acelerado en semillas de *Brachiaria brizantha* cv. **Insurgente**. Texcoco, México. Páginas: 16 – 18.
30. Herrera, J; Alizaga, R; Guevara, E y Jiménez, V. 2006. Germinación y crecimiento de la planta. Volumen 4. Editorial Universidad de Costa Rica, España. Página 18.
31. ISTA (International Seed Testing Association). 1993. International Rules for Seed Testing. Switzerland. Anexe to chapter 5: Germination (5A-23).
32. ISTA (International Seed Testing Association). 2004. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, CH, Switzerland.
33. ISTA (International Seed Testing Association). 2007. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, CH, Switzerland.
34. Jara, L. 1996. Biología de las semillas forestales. CATIE. Costa Rica. Página 29.
35. Loaiza, H. 1979. Silvicultura I. Departamento de publicaciones de la Universidad de Loja. Loja, Ecuador. Páginas: 46 – 54.
36. Morais LF de, Almeida JCC, Deminicis BB, Pádua FT de, Morenz MJF, Abreu JBR de, Araujo RP, Nepomuceno DD de. 2014. Methods for breaking dormancy of seeds of tropical forage legumes. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 1831 – 1835. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.513196>

37. Moreno, E M. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México (UNAM). Página: 380.
38. Niembro, A. 1979. Semillas de plantas leñosas. Editorial Limusa. D.F. México, México. Página: 93.
39. Papalotla. 2002. Manual de actualización técnica. Asesoría Papalotla. Semillas Papalotla S.A de C.V. Página: 22 – 23.
40. Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. Página 273.
41. Piertrosevoli, S. y Mendiri, J. 1997. Respuesta a la escarificación de semillas de *Clitorea ternatea* L. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 5 (1). Páginas: 28 – 29.
42. Ramos, N. 1975. Factores que influyen en la germinación de pasto (*Brachiaria decumbens* ssp.). Universidad Nacional – Instituto Colombiano Agropecuario (UN – ICA). Bogotá, Colombia. Página 128.
43. Romero T, D. 1988. Evaluación de yuca, plátano y kudzu en la alimentación de cerdos en crecimiento y acabado en el Valle del Palcazu. Lima, Perú. Páginas: 32 – 33.
44. Salisbury, F. y Ross, C. 1994 Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana. México. Página 415.
45. SENASA (Servicio de Sanidad Agraria). 2007. Manual de análisis de calidad de semillas de acuerdo a las Reglas Internacionales de Semillas (ISTA). Perú. Capítulo E. Páginas: 2 – 9.
46. Sierra, P. 2002. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. Editorial Universidad de Antioquía, Colombia. Páginas: 300 – 301.
47. Sierra, J. 2005. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. Segunda Edición. Universidad de Antioquía. Colombia. Páginas: 132 – 133.

48. Skerman P J. 1991. Tropical forage legumes. Edit by F. Riveros. Roma, FAO, 1991. *Plant production and protection series*. Páginas: 363 – 372.
49. Valdivia T, C B. 2015. Prueba de tetrazolio en semillas de espárrago (*Asparagus officinalis L.*). *Tesis Ing. Agrónomo UNALM*. Página 7.
50. Varela, SA y Arana, V. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Cuadernillo N° 3 *Serie Técnica: “Sistemas Forestales Integrados” – Área Forestal – INTAN EEA Bariloche*. Fecha de consulta 10 de Noviembre del 2016. Disponible en http://inta.gob.ar/documentos/cuadernillo-no3-latencia-y-germinacion-de-semillas-tratamientos-pregerminativos/at_multi_download/file/INTA_latencia.pdf
51. Vázquez, C; Orozco, A; Rojas, M; Sánchez, M E y Cervantes V. 1997. La reproducción de las plantas: Semillas y meristemos. Volumen 157 de la colección: La ciencia para todos. México. Fecha de consulta 08 de Noviembre del 2016. Disponible en : http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_5.htm
52. Zulay, F V; Montes, J y Manzano, M. 1998. Efecto de almacenamiento y tratamiento con ácido sulfúrico en semillas de *Brachiaria dictyoneura*. *Revista de Zootecnia Tropical* 16 (2). Páginas: 277 – 286.

VIII. ANEXOS

Anexo 01. Análisis ANVA para el porcentaje de plántulas normales

Observación	Tratamiento	Plántulas Normales
1	ASNA	49
2	ASNA	53
3	ASNA	51
4	ASNA	55
5	KNA	32
6	KNA	33
7	KNA	35
8	KNA	28
9	ACSULF	63
10	ACSULF	60
11	ACSULF	61
12	ACSULF	64
13	REMOJO	33
14	REMOJO	43
15	REMOJO	34
16	REMOJO	34
17	ESCARLIJ	51
18	ESCARLIJ	45
19	ESCARLIJ	53
20	ESCARLIJ	55
21	TESTIGO	40
22	TESTIGO	28
23	TESTIGO	36
24	TESTIGO	35

ASNA: Ácido Sulfúrico + Nitrato de Potasio (0.2%)
KNA: Nitrato de Potasio (0.2%)
TESTIGO: Sin tratamiento

REMOJO: Agua
ESCARLIJ: Lija

PORCENTAJE DE PLÁNTULAS NORMALES

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	6	ACSULF ASNA ESCARLIJ KNA REMOJO TESTIGO

Number of Observations Read	24
Number of Observations Used	24

Para la evaluación del día 10 fecha 29/9/16

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: **PLNORMAL**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1654.500000	330.900000	17.73	<.0001
Error	18	18.666667			
Total	23	1990.500000			

R – Square	Coeff Var	ROOT MSE	PLNORMAL Mean
0.831198	11.00763	4.320494	39.25000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	5	1654.500000	330.900000	17.73	<.0001

Anexo 02. Análisis ANVA para el porcentaje de semillas no germinadas

Observación	Tratamiento	Semilla fresca	Semilla dura	Semilla muerta	Suma total
1	ASNA	4	22	19	45
2	ASNA	6	29	10	45
3	ASNA	4	23	20	47
4	ASNA	9	21	13	43
5	KNA	16	34	11	61
6	KNA	23	33	10	66
7	KNA	23	35	6	64
8	KNA	15	40	14	69
9	ACSULF	7	6	21	34
10	ACSULF	7	10	16	33
11	ACSULF	6	13	17	36
12	ACSULF	7	10	18	35
13	REMOJO	21	33	11	65
14	REMOJO	21	30	4	55
15	REMOJO	21	34	8	63
16	REMOJO	13	45	4	62
17	ESCARLIJ	6	14	25	45
18	ESCARLIJ	3	19	31	53
19	ESCARLIJ	10	21	14	45
20	ESCARLIJ	6	20	14	40
21	TESTIGO	8	30	12	50
22	TESTIGO	5	35	25	65
23	TESTIGO	6	30	22	58
24	TESTIGO	11	37	8	56

ASNA: Ácido Sulfúrico + Nitrato de Potasio (0.2%)

KNA: Nitrato de Potasio (0.2%)

TESTIGO: Sin tratamiento

REMOJO: Agua

ESCARLIJ: Lija

PORCENTAJE DE SEMILLAS NO GERMINADAS

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	6	ACSULF ASNA ESCARLIJ KNA REMOJO TESTIGO

Number of Observations Read	24
Number of Observations Used	24

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: **SUMATOTAL**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2698.708333	539.741667	31.83	<.0001
Error	18	305.250000			
Total	23	3003.958333			

R – Square	Coeff Var	ROOT MSE	SUMATOTAL Mean
0.898384	8.00268	4.118050	51.45833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	5	2698.708333	539.741667	31.83	<.0001

Anexo 03. Análisis ANVA para el porcentaje de germinación fisiológica

Observación	Tratamiento	Plántula normal	Plántula anormal	Suma total
1	ASNA	49	6	55
2	ASNA	53	2	55
3	ASNA	51	2	53
4	ASNA	55	2	57
5	KNA	32	7	39
6	KNA	33	1	34
7	KNA	35	1	36
8	KNA	28	3	31
9	ACSULF	63	3	66
10	ACSULF	60	7	67
11	ACSULF	61	3	64
12	ACSULF	64	1	65
13	REMOJO	33	2	35
14	REMOJO	43	2	45
15	REMOJO	34	3	37
16	REMOJO	34	4	38
17	ESCARLIJ	51	4	55
18	ESCARLIJ	45	2	47
19	ESCARLIJ	53	2	55
20	ESCARLIJ	55	5	60
21	TESTIGO	40	10	50
22	TESTIGO	28	7	35
23	TESTIGO	36	6	42
24	TESTIGO	35	9	44

ASNA: Ácido Sulfúrico + Nitrato de Potasio (0.2%)

KNA: Nitrato de Potasio (0.2%)

TESTIGO: Sin tratamiento

REMOJO: Agua

ESCARLIJ: Lija

PORCENTAJE DE GERMINACIÓN FISIOLÓGICA

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	6	ACSULF ASNA ESCARLIJ KNA REMOJO TESTIGO

Number of Observations Read	24
Number of Observations Used	24

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: **SUMATOTAL**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2698.708333	539.741667	31.83	<.0001
Error	18	305.250000			
Total	23	3003.958333			

R – Square	Coeff Var	ROOT MSE	SUMATOTAL Mean
0.898384	8.483536	4.118050	45.54167

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	5	2698.708333	539.741667	31.83	<.0001

Anexo 04. Reporte de análisis de la semilla de kudzu



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

LABORATORIO DE SEMILLAS

FACULTAD DE AGRONOMIA

Departamento de Fitotecnia

REPORTE DE ANALISIS

Nombre	SAIU EXPORT SAC
Detalle	Kudzu LEGUM 01 – 01 - 2015 Peso: 484.4g

Peso del lote	Numero de bolsas	Fecha muestreo	Otras referencias
-	-	-	-

Precinto	Fecha entrada	Fecha terminación	Nº Análisis
La semilla se tomó de una bolsa ziploc	29/01/16	23/02/16	74

Resultado del Análisis									
Especie (nombre científico) <i>Pueraria phaseoloides</i>									
PUREZA(% de peso)			GERMINACIÓN (%)						HUMEDAD %
Semilla pura	Otras semillas	Materia inerte	Numero de días	% en numero					
				Plántula normal	Semilla dura	Semilla fresca	Plántula anormal	Semilla muerta	
-	-	-	21	42	36	1	5	16	-

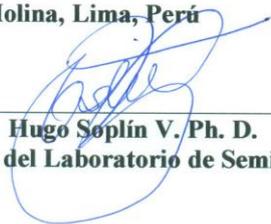
Porcentaje de germinación: 42%

Fecha de inicio de la prueba: 02/02/16

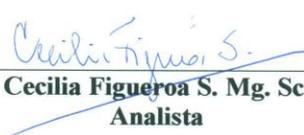
Observaciones	La semilla fue remojada en agua por 24 horas y luego fue colocada entre papel dentro del germinador a 32°C constante por 21 días a solicitud del cliente.
----------------------	---

La Molina, Lima, Perú

Fecha: 25/02/16


Hugo Soplin V. Ph. D.
Jefe del Laboratorio de Semillas




Cecilia Figueroa S. Mg. Sc.
Analista