

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**“INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO PREVIO A LA GERMINACIÓN  
PARA SUPERAR LA DORMICIÓN EN SEMILLAS DE  
ESPÁRRAGO (*Asparagus officinalis* L.)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERA AGRÓNOMA**

**ESTEFFFANY DÁVILA RIVERA**

**LIMA-PERÚ**

**2024**

# INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO PREVIO A LA GERMINACIÓN PARA SUPERAR LA DORMICIÓN EN SEMILLAS DE ESPÁRRAGO (*Asparagus officinalis* L.)

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad de Costa Rica	1%
	Trabajo del estudiante	
2	Submitted to Universidad San Francisco de Quito	1%
	Trabajo del estudiante	
3	Submitted to Wageningen University	<1%
	Trabajo del estudiante	
4	Submitted to Universidad Nacional de Colombia	<1%
	Trabajo del estudiante	
5	Submitted to ITESM: Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey	<1%
	Trabajo del estudiante	
6	Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS	<1%
	Trabajo del estudiante	
7	Submitted to University of Brighton	<1%
	Trabajo del estudiante	

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**“INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO PREVIO A LA GERMINACIÓN PARA  
SUPERAR LA DORMICIÓN EN SEMILLAS DE ESPÁRRAGO (*Asparagus  
officinalis* L.)”**

**ESTEFFANY DÁVILA RIVERA**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

.....  
Ing. M. S. Andrés Virgilio Casas Díaz

**PRESIDENTE**

.....  
Ing. Mg. Sc. Cecilia Emperatriz Figueroa Serrudo

**ASESORA**

.....  
Ph. D. Rember Emilio Pinedo Taco

**MIEMBRO**

.....  
Ing. Mg. Sc. Isabel Maximiliana Montes Yarasca

**MIEMBRO**

Lima – Perú

2024

## ***DEDICATORIA***

El presente trabajo de tesis se lo dedico a mis padres Margarita Rivera Nolasco y Omar Dávila Lozano, porque ellos han sido el pilar fundamental para lograr mis metas. Desde pequeña me apoyaron en mi formación académica, siempre estuvieron guiándome con sus sabios consejos durante mi vida, ellos son mi motivación y fuerza para seguir adelante.

## ***AGRADECIMIENTOS***

- Primeramente, a Dios por acompañarme todos los días de mi vida por brindarme sabiduría y cuidarme.

- A mis padres que a lo largo de mi vida siempre estuvieron en cada paso de mi formación personal y académica, sin su apoyo no hubiera sido posible alcanzar mis metas. Ellos siempre fueron mi motivación de seguir adelante.

-A mi estimada asesora la Ing, Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo por haberme guiado con sus conocimientos y experiencia durante la práctica y redacción, y haberme brindado su valioso tiempo en cada consulta y revisión.

-Al Dr. Alexander Chávez, por abrirme las puertas y formar parte de su equipo y confiar en mí, por brindarme artículos científicos que formaron parte del presente estudio, y su gran apoyo moral para la realización y motivación de este trabajo.

- A la ingeniera Kryss Vargas por ser como una segunda mamá en el INIA, por sus valiosos consejos, por confiar en mí y el gran apoyo moral durante todo este tiempo para culminar mi tesis.

- A Martin Delgado por haber sido parte de mi vida universitaria y guiarme en el análisis estadístico del presente estudio.

-A mi hermana Selenia por ser mi compañera de vida y por ser parte de este trabajo en el diseño de mis diapositivas y la calidad de mis imágenes.

- A la señora Lupe del Laboratorio de Investigación de Semillas del INIA por haberme apoyado en la instalación de la parte práctica del presente estudio.

- Al Instituto Nacional de Innovación Agraria por acogerme en sus instalaciones y haberme brindado un espacio para desarrollar mi tesis.

-A los miembros del jurado Ing. M. S. Andrés Virgilio Casas Díaz, Ph. D. Rember Emilio Pinedo Taco y la Ing. Mg. Sc. Isabel Maximiliana Montes Yarasca, por sus valiosos aportes.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	2
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	2
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. EL ESPÁRRAGO .....	3
2.2. DORMANCIA .....	3
2.2.1. Rol biológico de la dormancia.....	3
2.2.2. Clasificación de dormancia.....	4
2.2.3. Nuevas clasificaciones.....	6
2.2.4. Causas de la dormancia .....	9
2.2.5. Metabolismo energético de semillas dormantes .....	12
2.2.6. Relación entre dormancia y genética.....	12
2.2.7. Medio ambiente y la dormancia .....	13
2.3. TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS .....	14
2.3.1. Giberelina .....	14
2.3.2. Nitrato de potasio.....	16
2.3.3. Ácido sulfúrico .....	17
2.3.4. Ecovida Lactodefense .....	18
2.4. GERMINACIÓN.....	19
2.4.1. Proceso de la germinación .....	19
2.4.2. Factores externos en la germinación.....	21
2.4.3. Germinación hipógea.....	23
2.5. ESTRUCTURAS ESENCIALES DE LAS PLÁNTULAS DEL ESPÁRRAGO.	23
2.6. PLÁNTULAS NORMALES.....	24
2.7. PLÁNTULAS ANORMALES.....	25
2.8. SEMILLAS NO GERMINADAS .....	25
2.9. VIABILIDAD .....	25
<b>III. METODOLOGÍA</b> .....	28
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN DEL EXPERIMENTO .....	28
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....	28
3.3. MUESTRA DE TRABAJO.....	28

3.4. VARIABLES ESTUDIADAS .....	28
3.4.1. Porcentaje de germinación fisiológica (PG).....	28
3.4.2. Porcentaje de plántulas normales (PPN).....	28
3.4.3. Porcentaje de plántulas anormales (PPA).....	28
3.4.4. Porcentaje de semillas no germinadas (SNG) .....	29
3.5. TRATAMIENTOS EVALUADOS .....	29
3.6. METODOLOGÍA .....	30
3.6.1. Procedimientos de los tratamientos .....	30
3.6.2. Ensayo de germinación.....	31
3.6.3. Ensayo de viabilidad.....	32
3.6.4. Diseño experimental .....	33
3.6.5. Modelo estadístico .....	34
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>38</b>
4.1. PORCENTAJE DE GERMINACIÓN FISIOLÓGICA .....	38
4.2. PORCENTAJE DE PLÁNTULAS NORMALES DE TAMAÑO REDUCIDO..	41
4.3. PLÁNTULAS NORMALES.....	42
4.4. PLÁNTULAS ANORMALES.....	49
4.5. SEMILLAS NO GERMINADAS .....	50
4.6. ENSAYO DE VIABILIDAD .....	52
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>39</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>41</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>59</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Niveles de dormancia morfofisiológica .....	8
Tabla 2: Resultados de análisis de laboratorio de microbiología del Ecovida .....	18
Tabla 3: Especificaciones de los tratamientos aplicados en semillas de espárrago.....	29
Tabla 4: Esquema del análisis de varianza .....	36
Tabla 5: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación fisiológica .....	38
Tabla 6: Prueba de Dunnet (0.05) para germinación fisiológica.....	38
Tabla 7: Germinación fisiológica de semillas (%) .....	40
Tabla 8: Análisis de varianza para el porcentaje de plántulas normales .....	42
Tabla 9: Prueba de Dunnet del porcentaje de plántulas normales a los 28 días .....	43
Tabla 10: Plántulas normales.....	45
Tabla 11: Análisis de varianza para el porcentaje de plántulas anormales a los 28 después de la siembra .....	49
Tabla 12: Comparación de medias de plántulas anormales.....	49
Tabla 13: Análisis de varianza para el porcentaje de semillas no germinadas .....	51
Tabla 14: Análisis de semillas no germinadas.....	52
Tabla 15: Porcentaje de semillas viables y no viables mediante la prueba de Tetrazolio ...	38



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tipos de dormancia fisiológica no profunda.....	7
Figura 2: Fases de la germinación .....	21
Figura 3: Partes de una plántula de espárrago .....	24
Figura 4: Distribución de semillas sobre el sustrato.....	31
Figura 5: Los cinco tratamientos con cuatro repeticiones .....	32
Figura 6: Prueba de viabilidad.....	33
Figura 7: Porcentaje promedio de plántulas normales con tamaño reducido .....	41
Figura 8: Plántulas normales de tamaño reducido.....	42
Figura 9: Plántulas normales de espárrago a los 28 días después de la siembra .....	48
Figura 10: Plántulas normales tratadas con nitrato de potasio .....	48
Figura 11: Plántulas anormales de los tratamientos ácido giberélico y nitrato de potasio.....	50
Figura 12: Plántulas anormales del testigo y del tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas).....	50
Figura 13: Semillas viables.....	54
Figura 14: Semillas no viables.....	54

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Análisis Tukey para porcentaje de germinación fisiológica .....	59
Anexo 2: Análisis Tuckey para el porcentaje de plántulas normales .....	60
Anexo 3: Análisis Tuckey para el porcentaje de plántulas anormales .....	61
Anexo 4: Análisis Tuckey para el porcentaje de semillas no germinadas.....	62
Anexo 5: Análisis ANVA para el porcentaje de Semillas Frescas.....	63
Anexo 6: Análisis ANVA para el porcentaje de semillas duras.....	63
Anexo 7: Análisis ANVA para el porcentaje de semillas muertas.....	63

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Semillas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). El objetivo del estudio fue determinar un tipo de tratamiento previo a la germinación que supere la dormición de semillas de espárrago (*Asparagus officinalis*). Se emplearon cinco pretratamientos: Ecovida (bacterias ácido-lácticas), ácido sulfúrico (75 %), el nitrato de potasio (0.2 %), el ácido giberélico (0.1 %) y un testigo (sin tratamiento). El mayor porcentaje de germinación fisiológica se registró al séptimo día en semillas tratadas con Ecovida (81.75%) y con KNO<sub>3</sub> (81.25%), y el menor con ácido sulfúrico (19.0%). El mayor porcentaje de plántulas normales a los 28 días después de la siembra se obtuvo con Ecovida (80.0%) y el testigo (75.5%), mientras que, con el ácido giberélico y el KNO<sub>3</sub>, se observaron efectos negativos (raíces atrofiadas y menor desarrollo de plántula). No se encontró diferencias significativas en el porcentaje de semillas no germinadas entre todos los tratamientos. Posteriormente, en el ensayo de tetrazolio se obtuvo 79 % de viabilidad, cuyo resultado fue ligeramente mayor a la germinación del testigo, indicando que no existe estrictamente una dormancia. Sin embargo, la presencia de semillas duras puede ser un indicador de una leve dormancia física por la presencia de fitomelanina en la testa de las semillas de espárrago. Los resultados indican que el Ecovida favorece una mayor tasa y uniformidad en la germinación de las semillas en todas las etapas de evaluación sin ningún efecto negativo.

**Palabras clave:** *Asparagus officinalis*, dormancia de semillas, germinación, tratamientos de semillas, viabilidad de semillas

## ABSTRACT

The present study was carried out at the Seed Laboratory of the National Institute for Agrarian Innovation (INIA). The aim of the study was to determine a type of pre-germination treatment that overcomes the dormancy of asparagus (*Asparagus officinalis*) seeds. Five pre-treatments were used: Ecovida (lactic acid bacteria), sulphuric acid (75 %), potassium nitrate (0.2 %), gibberellic acid (0.1 %) and a control (no treatment). The highest percentage of physiological germination was recorded on the seventh day in seeds treated with Ecovida (81.75%) and KNO<sub>3</sub> (81.25%), and the lowest with sulphuric acid (19.0%). The highest percentage of normal seedlings at 28 days after sowing was obtained with Ecovida (80.0%) and the control (75.5%), while negative effects (stunted roots and reduced seedling development) were observed with gibberellic acid and KNO<sub>3</sub>. No significant differences were found in the percentage of non-germinated seeds among all treatments. Subsequently, in the tetrazolium test, 79 % viability was obtained, which was slightly higher than the germination of the control, indicating that dormancy does not strictly exist. However, the presence of hard seeds may be an indicator of a slight physical dormancy due to the presence of phytomelanin in the asparagus seed testa. The results indicate that Ecovida favours a higher rate and uniformity of seed germination at all stages of evaluation without any negative effect.

**Keywords:** *Asparagus officinalis*, seed dormancy, germination, seed treatments, seed viability.

## I. INTRODUCCIÓN

En el Perú el espárrago (*Asparagus officinalis* L.) es uno de los principales productos de agroexportación, siendo los principales destinos EE. UU., España, Países Bajos, Reino Unido, Francia e Italia (SIEA, 2023). Desde 1950 hasta 2014 este cultivo tuvo un gran crecimiento. Sin embargo, en los últimos años las exportaciones decrecieron y en 2020 (año de la pandemia del COVID 19), la situación se complicó. Si bien en 2021, el cultivo tuvo un crecimiento positivo, no fue suficiente como para llegar al nivel de años anteriores a 2020. Esto se debe a que se presentó un conjunto de problemas como el inadecuado manejo del cultivo, la falta de diversificación y la alta competencia, no solo a nivel internacional, sino a nivel interno, con otros productos agrícolas. Además de ello, la fumigación con bromuro de metilo que exige EE. UU. Eleva los costos de envío y acorta la vida en anaquel. Sin embargo, en 2023 se ha anunciado la suspensión de la fumigación, lo que representa un gran alivio para muchos productores y una nueva oportunidad para recuperar el nivel de exportación (Rodríguez, 2022).

Para lograr este objetivo, además de otros factores, es importante trabajar a nivel de semilla, pues en una investigación anterior en el laboratorio de semillas de la Universidad Nacional Agraria La Molina laboratorio se detectó algún tipo de dormancia en las semillas de espárrago, un estado que no permite o retrasa la germinación y ocasiona por consiguiente una demora en el análisis de calidad de la semilla. Por otro lado, en comparación con otras hortalizas, la semilla de espárrago demora en germinar en el campo, entre 15 y 30 días, debido, probablemente a la dormancia. Por tanto, la presente investigación busca una nueva alternativa para superar la dormancia de las semillas de espárrago, con el fin de mejorar el establecimiento de las plantas en el campo, disminuyendo costos y contribuir con otros posibles estudios de tratamientos avanzados que se realicen en esta especie. Asimismo, se busca aportar en el tema de análisis de la calidad de las semillas, determinando el mejor método de pretratamiento de estas, para acortar y promover la etapa de germinación y reducir el tiempo de los análisis de calidad. La presente investigación se realizó comparando tres

tratamientos mencionados en las Reglas Internacionales para el Análisis de Semilla (ISTA), un tratamiento del mercado (Ecovida), y un testigo (sin tratamiento), bajo las mismas condiciones de laboratorio según las normas ISTA.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar un tipo de tratamiento previo a la germinación que supere la dormición de semillas de espárrago.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el efecto de cinco tratamientos previos a la siembra sobre semillas de espárrago.
- Comparar el porcentaje de viabilidad con el porcentaje de germinación.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. EL ESPÁRRAGO

El espárrago es una especie originaria y domesticada en el suroeste de Asia y el Mediterráneo. Forma parte del género *Asparagus*, dentro de este hay especies que son ornamentales y comestibles como el espárrago. Pertenece a la familia Asparagaceae junto a otras especies (Del Pozo, 1999). Cada año en el mundo se producen alrededor de 8.5 millones de toneladas de espárrago, siendo los principales productores China, Perú y México (Amor *et al.*, 2022). Los países que más importan espárragos son EE.UU., Japón, Alemania, Canadá, Países Bajos entre otros (SIICEX, 2022). En nuestro país se siembra principalmente en La Libertad e Ica, siendo la primera variedad sembrada Mary Washington, utilizada para enlatar espárrago blanco. Actualmente ésta ha sido sustituida por cultivares como UC157 F1 (IPEH, 2023).

Es una planta perenne, debido a que la parte subterránea también llamada corona, conformada por raíces y rizomas duran varios años en el suelo. Estos rizomas son los responsables de generar tallos aéreos, porque posee varias yemas y de cada una de estas emerge un tallo o turión que es la parte comestible. La parte aérea llamada helecho, surge a partir de estos tallos o turiones que tienen brácteas (forma triangular), que son las hojas verdaderas, y al crecer el turión se forma ramificaciones y luego tallos modificados denominados cladófilas y sobre ellas se desarrollan flores y frutos. El fruto es una baya de color rojo que puede dar de 3 a 5 semillas de color negro (Del Pozo, 1999). Las flores son pequeñas, en forma de campana, y pedunculares, siendo tipo dioica, es decir, que tiene flores masculinas y femeninas en plantas distintas (Guerrero, 2019).

Es una planta de climas templados en los que se presenta un periodo de bajas temperaturas, en el que deja de crecer debido al estrés por frío. En este periodo la planta acumula reservas y sufre cambios bioquímicos que, posteriormente la inducen a emitir brotes jóvenes (turiones), que se cosechan y consumen. Además, la temperatura ambiente óptima para su

crecimiento está en el rango de 14 °C a 22 °C, pero también son favorables temperaturas entre 12 °C y 28 °C. La diferencia entre las temperaturas de día y de noche de 8 °C favorece el crecimiento, pero la temperatura mínima no debe ser menor que 8 °C, porque los turiones son muy sensibles (Vega, 2013).

Debido a sus propiedades diuréticas, esta planta se ha utilizado como medicamento principalmente para el tratamiento de enfermedades renales, gastrointestinales, cálculos biliares, entre otros (Rodríguez, 1991). Además, los espárragos son bajos en calorías y sal, sin grasa y altos en folato y potasio (Guerrero, 2019).

## **2.2. DORMANCIA**

De acuerdo con Matilla (2013), “la dormición se define como el bloqueo que tiene lugar en una semilla viable que le impide completar la germinación en condiciones favorables” (p. 11). Otros autores definen a la dormancia como la falta de germinación temporalmente de una semilla (viable) en condiciones favorables (Bewley *et al.*, 2013; De la Cuadra, 1992; Pérez y Pita, 1999a). Baskin y Baskin (2004) mencionan una definición más completa, “una semilla durmiente carece de la capacidad para germinar en un período de tiempo concreto, aunque se someta a una combinación de factores físicos medioambientales que en otras ocasiones favorecen su germinación”. Además, es importante mencionar que la dormancia se inicia durante el desarrollo de la semilla, pero también se desarrolla cuando es colocada en ambientes no favorables para su germinación (Fowler y Bianchetti, 2000).

Por otra parte, es importante mencionar que una semilla quiescente se diferencia de una dormante porque la quiescencia es causada por la falta de factores externos necesarios para la germinación y la dormancia es causada por bloqueos internos propias de la semilla, por ello se determinó que las semillas dormantes necesitan un proceso de posmaduración o ruptura de dormancia (Cardoso, 2009).

### **2.2.1. Rol biológico de la dormancia**

En la naturaleza la dormancia asegura que las semillas germinen en un momento adecuado, para sobrevivir frente a las adversidades del medio ambiente (Bewley *et al.*, 2013 y De la Cuadra, 1992).



El rol biológico que tiene la dormancia se da de tres maneras (Bewley *et al.*, 2013). 1) La planta madre es capaz de dispersar semillas con diferentes grados de dormancia o no dormancia, a esto se le conoce como polimorfismo o heteromorfía, y como consecuencia de esto, se tiene semillas con diferente color, tamaño y grosor de la cubierta, lo que ocasiona que al haber una germinación irregular las plántulas puedan evitar la competencia entre ellas y la continuación de la especie. 2) La segunda manera es que las semillas dormantes manejan su propio tiempo, por ejemplo, algunas especies inician su germinación después del invierno para evitar condiciones adversas. 3) Por último, las semillas dormantes pueden dispersarse a través del viento, agua y animales. Así, por ejemplo, en la región tropical las semillas que tienen dormancia física tienen más posibilidades de supervivencia y los cereales gracias a la dormancia no germinan inmediatamente después de ser cosechados en el campo, sino se desperdiciaría un alimento tan importante para el hombre (Tyohemba, 2023).

### **2.2.2. Clasificación de dormancia**

A través del tiempo diversos autores como Harper en 1957, Nikolaeva entre otros, han intentado clasificar la dormancia de semillas. En 1987 Lang y otros autores clasificaron a la dormancia en ecodormancia, paradormancia y endodormancia, pero esta clasificación estaba referida a cualquier parte de la planta y especialmente fisiológica, sin tomar en cuenta sobre los embriones y tegumentos. Sin embargo, sin los aportes de estos autores hoy no podríamos tener una clasificación (Pegorin *et al.*, 2022).

#### **a. En base a la inducción**

Los tipos de dormancia se dan en base al momento de la inducción y ubicación o mecanismos implicados. De acuerdo con el momento de la inducción se tiene dormancia primaria y dormancia secundaria (Bewley *et al.*, 2013; Cardoso, 2009; Pegorin *et al.*, 2022).

- **Dormancia primaria:** Según De la Cuadra (1992) esta dormancia “se inicia después de la maduración de la semilla cuando está en la planta”. Muchas semillas salen de la planta en un estado dormante, esto significa que es de tipo primaria. (Taiz y Zeiger, 2006). Es inducida al final de la maduración de la semilla por el ácido abscísico (ABA), es así como la relación entre dicho ácido y la giberelina (GAs) debe ser baja para que haya germinación. Esta dormancia se puede eliminar en el laboratorio mediante la estratificación, luz, GAs, etileno, óxido nítrico entre otros (Matilla, 2013).

- **Dormancia secundaria:** La dormición secundaria se da sobre aquellas semillas ya maduras que no están en la planta madre, es decir, después de la dispersión de la semilla y a partir de ello, pueden ser inducidas por el medio ambiente y generar algún tipo de dormición (De la Cuadra, 1992; Matilla, 2013; Pérez y Pita, 1999a y Vivian et al., 2008). Además, en condiciones naturales está vinculada a las semillas que pertenecen al banco de semillas del suelo (Matilla,2013). El banco de semillas se refiere a semillas viables sobre la superficie del suelo y se divide en 2 grupos: a) semillas que son capaces de mantenerse viables por mucho tiempo cuando se entierran y b) semillas que mantienen su viabilidad por un tiempo corto (De la Cuadra, 1992). Al respecto Bewley *et al.* (2013), señalan que las semillas estando en el suelo pueden ganar dormancia secundaria, ya sea por las condiciones desfavorables o si la germinación de la semilla se inhibe por otros medios, como el estrés osmótico. Asimismo, menciona 2 términos, la skotodormancia que se refiere a dormancia en oscuridad (el agua reduce el nivel de skotodormancia en lechuga (Baskin y Baskin, 2004), y termodormancia o termoinhibición referida a la inhibición de la germinación bajo condiciones de alta temperatura. Entonces la dormición secundaria se elimina principalmente cuando la temperatura y el potencial hídrico del suelo son óptimos, así también otros factores como la luz y el NO<sub>3</sub> ayudan a la eliminación. Sin embargo, todavía faltan estudios para conocer cómo funciona y las causas (Matilla,2013).

#### **b. En base a la localización**

En cuanto a la localización del factor inhibitorio la dormancia se clasifica en dos tipos fundamentales: dormancia embrionaria y dormancia tegumental (Bewley *et al.*, 2013; Pegorin *et al.*, 2022).

- **Dormancia embrionaria o endógena:** Esta dormancia se evidencia cuando a pesar de que se retire los tegumentos no logran germinar. Esto ocurre porque el embrión es inmaduro o presenta mecanismos fisiológicos que impiden la germinación. (Bewley *et al.*, 2013; De la Cuadra, 1992; Fowler y Bianchetti, 2000). Asimismo, Pérez y Pita (1999a) mencionan que esta dormancia se encuentra dentro del embrión, por ello eliminar las cubiertas no logrará que la semilla germine.

- **Dormancia tegumental o exógena:** En este caso el tegumento o pericarpio presenta inhibidores químicos que no permiten la permeabilidad del agua y el oxígeno. Por ejemplo, en algunos casos las cubiertas de las semillas que están en el suelo pueden ser degradadas por hongos y bacterias, lo que facilita la germinación. También la cubierta puede ser ablandada por calor, frío o un ácido (Bewley *et al.*, 2013; De la Cuadra, 1992; Fowler y Bianchetti, 2000).

### 2.2.3. Nuevas clasificaciones

La clasificación de dormancia de semilla propuesta por la fisióloga Marianna Nikolaeva, citada por Pegorin *et al.* (2022) tuvo varios cambios en el tiempo. Sin embargo, la mayor parte de clasificaciones que tenemos actualmente están basadas en el modelo de la autora y se basa en la morfología de la semilla. Esta clasificación de la autora es la más completa y en base a ello se propone una nueva clasificación (Pegorin *et al.*, 2022). Este nuevo sistema modificado es propuesto por Baskin y Baskin (2004), que “incluye tres capas jerárquicas: clase, nivel y tipo; por lo tanto, una clase puede contener niveles y tipos, y un nivel puede contener solo tipos”. Al respecto, Matilla (2013) propone “Dormición Fisiológica (DF), morfológica (DM) morfofisiológica (DMF), física (Df) y combinatoria (DF + Df)”.

- Dormancia fisiológica:** Esta dormancia tiene 3 niveles (profundo, intermedio, no profundo). El profundo genera plántulas anormales y el GA no promueve la germinación, por lo que necesita de 3 a 4 meses de estratificación en frío. En el nivel intermedio, el embrión extirpado de plántulas normales, solo en algunas especies, el GA promueve la germinación y se necesita 2-3 meses de estratificación en frío para romper la dormancia. En el nivel no profundo, el embrión extirpado promueve plántulas normales, el GA, la escarificación y la estratificación en frío o cálida, rompen esta dormancia y aquí se encuentran las gimnospermas (Coniferales, Gnetales) como en todas las angiospermas (Baskin y Baskin, 2004). El nitrato de potasio, tiourea y etileno también ayuda a romper esta dormancia no profunda (Vivian *et al.*, 2008). Esta dormancia es muy compleja, ya que se debe al metabolismo propio de la semilla (De la Cuadra, 1992). Al respecto Matilla (2013) plantea que la dormancia fisiológica no profunda es inducida por el ABA, esto se comprueba ya que se encontraron altas concentraciones en la etapa de imbibición de semilla, por ello va a depender mucho si la relación sea alta o baja entre ABA/GA

para que la semilla germine. La intensidad está regulada por la interacción de la dormancia que tiene el embrión y tejidos que la rodean. Además, la luz como la estratificación en frío ayudan a su desaparición, ya que causan la síntesis de la giberelina.

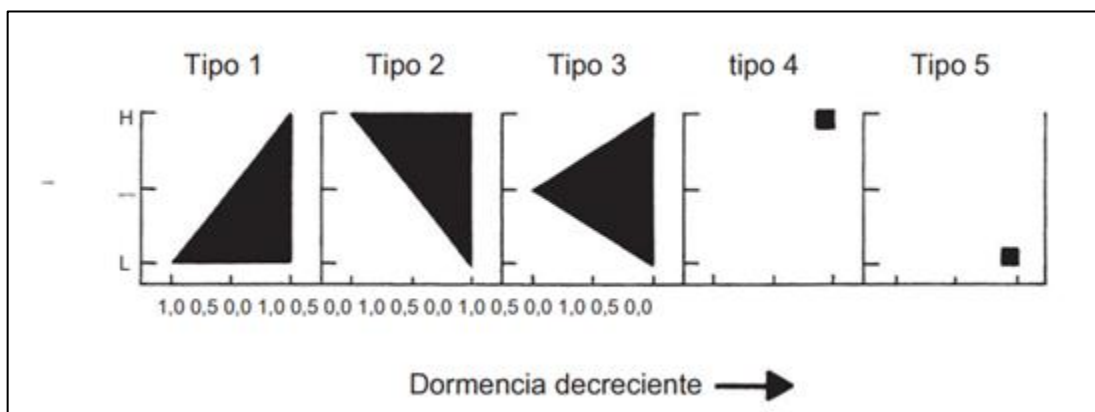
Por otro lado, Baskin y Baskin (2004) clasifica la dormancia en 5 tipos, de la siguiente manera:

El tipo 1 se refiere a que la semilla va perdiendo la dormancia a medida que la temperatura va de menor a mayor grado.

El tipo 2, la temperatura debe ir de mayor a menor para perder la dormancia.

El tipo 3 va de una temperatura intermedia a más alta o intermedia a más baja.

En el tipo 4 y 5 no se tiene mucho conocimiento, ya que parece que las semillas de este tipo pasan de un estado dormante a no dormante de forma directa sin pasar por temperaturas intermedias, es por ello, que las semillas del tipo 4 solo germinan a temperaturas altas y las de tipo 5 solo a temperaturas bajas. Sin embargo, semillas que pertenecen a este grupo son muy escasas, ya que la mayoría está en el tipo 1 y 2.



**Figura 1: Tipos de dormancia fisiológica no profunda**

*Nota.* Tipos de dormancia de acuerdo con la temperatura, donde (1,0) es el estado dormante y (0,0) representa el estado no dormante. Adaptado de “A classification system for seed dormancy” (p. 7), Baskin y Baskin (2004), *Seed Science Research*, 14 (1).

- b. Dormancia morfológica:** Los embriones son diferenciados, pequeños y les falta desarrollarse completamente, por ello, se dice que no están dormantes, ya que no necesitan un pretratamiento para germinar, sino buenas condiciones para completar

su desarrollo (Baskin y Baskin 2004). Entonces esta dormancia básicamente se debe a una falla en el crecimiento del embrión (Matilla, 2013). Sin embargo, según Vivian *et al.* (2008) en este grupo también se encuentran aquellas especies con embriones inmaduros o rudimentarios y pueden ser indiferenciados, es decir, que no han alcanzado su desarrollo. Entonces aparte de las buenas condiciones que necesita, el ácido giberélico también colabora para romper esta dormancia. Mayormente está relacionada con otras dormancias, ya que la mayoría de las especies que presentan dormancia morfológica, después de la maduración de la semilla generan la dormancia fisiológica.

- c. Dormancia Morfofisiológica:** En este caso las semillas tienen un embrión que falta desarrollarse y a la vez tiene un componente fisiológico de dormancia, por lo tanto, el embrión necesita más tiempo para poder culminar su desarrollo que las semillas con dormancia morfológica y dentro de este grupo existen 8 niveles (Baskin y Baskin, 2004).

**Tabla 1: Niveles de dormancia morfofisiológica**

Tipo de dormancia morfofisiológica	Temperatura requerida		GA <sub>3</sub> supera la dormancia
	Para romper la dormancia de la semilla	En el momento del crecimiento del embrión	
Simple no profundo	W o C	W	SI
Intermedio sencillo	W + C	W	SI
Profundo simple	W + C	W	SI/NO
Epicotilo simple profundo	W + C	W	SI/NO
Profundo simple doble	C + W + C	W	?
Complejo no profundo	C	C	SI
Complejo intermedio	C	C	SI
Complejo profundo	C	C	NO

*Nota.* Niveles de dormancia morfofisiológicas y secuencia de temperatura, donde W es estratificación cálida y C estratificación fría que se requiere para romper la dormancia. Adaptado de “A classification system for seed dormancy” (p. 7), Baskin y Baskin, (2004), *Seed Science Research*, 14 (1).

- d. Dormancia física:** Este tipo de dormancia agrupa aquellas semillas cuya cubierta seminal o envoltura de la semilla es impermeable, lo cual no permite que el agua llegue hasta el embrión para dar inicio así a la germinación, a pesar de que el embrión no tiene dormancia (Baskin y Baskin, 2004; Matilla, 2013). Según Vivian *et al.* (2008), la dormancia física “se encuentra en especies que tienen semillas grandes,

cuyo embrión almacena la mayor parte de las reservas necesarias para el proceso de germinación” (p.697).

- e. **Dormancia combinada (física y fisiológica):** Las semillas tienen cubiertas impermeables al agua y el embrión es dormante fisiológicamente. Respecto a la dormancia fisiológica la mayoría de las semillas tienen el nivel no profundo y muy pocos el nivel intermedio, explicados anteriormente. Algunas familias como las Fabáceas cuyos embriones recién madurados salen de la dormancia en almacenamiento en seco o en el campo después de la madurez, otras necesitan estratificación en frío, para que puedan romper la dormancia física y las semillas puedan absorber agua (Baskin y Baskin, 2004).

#### 2.2.4. Causas de la dormancia

##### a. Causas de dormancia tegumental

De acuerdo con Fowler y Bianchetti (2000), existe 4 causas para este tipo de dormancia:

- **Interferencia con la absorción de agua:** Se da principalmente por la presencia de osteosclereides, que son capas de células en forma de hueso que evitan la entrada de agua en familias como las leguminosas y malváceas, entre otras (Bewley *et al.*, 2013; Fowler y Bianchetti, 2000). Por ejemplo, las semillas de la arveja Coronilla tiene capas con osteosclereidas, por eso se debe perforar la semilla para que pueda absorber agua (Bewley *et al.*, 2013). Según Bewley *et al.* (2013), “existen otros componentes como lignina, cutina, quinonas, suberina, ceras, callosa, compuestos fenólicos y sustancias hidrofóbicas que están involucrados en la impermeabilización del agua” (p.255). Algunas semillas presentan reguladores en su capa superficial que controlan el agua, es decir, hasta cierto punto se hidratan, pero no llega hasta el embrión. Por tanto, la permeabilidad de la semilla está guiada genéticamente y también depende de la humedad relativa del aire durante la fase de maduración del desarrollo de la semilla.

- **Impedimento mecánico:** Los tejidos alrededor del embrión (endospermo, perispermo y testa) son resistentes e impiden la expansión del embrión, pero a través de un empuje suficiente del embrión puede lograr su expansión y salida de la radícula (Bewley *et al.*, 2013). Asimismo, hay casos donde el embrión tiene una enzima llamada mananasa que debilita los tejidos fuertes, y de esta forma supera la dormancia (Fowler y Bianchetti, 2000). Por ejemplo, en el caso de tomate, tabaco café y *Datura ferox*, el endospermo es digerido por enzimas hidrolíticas (Bewley *et al.*, 2013).
- **Interferencia con el intercambio de gases:** Ocurre cuando los tejidos que rodean al embrión son incapaces de realizar el intercambio gaseoso, por lo cual no entra oxígeno o no puede salir el dióxido de carbono. (Bewley *et al.*, 2013; Fowler y Bianchetti, 2000). Esto se ha demostrado, porque muchas semillas han logrado germinar gracias a un raspado o pinchazo en la cubierta, por ejemplo, un pinchazo en la semilla de trigo a través de su pericarpio permite algo de germinación. Sin embargo, si bien la cubierta limita el oxígeno, esto no afecta la producción de adenosín trifosfato (ATP) del embrión. Esto se explica porque hay inhibidores que están en el embrión que se oxidan a altas concentraciones de oxígeno y no al aire libre, por ello la cubierta tiene un efecto doble, retiene el inhibidor y no deja pasar al oxígeno para la oxidación de este, impidiendo la germinación. Así, por ejemplo, las semillas de *Xanthium* tienen inhibidores en el embrión que necesitan de altas concentraciones de oxígeno para que se oxiden (Bewley *et al.*, 2013).
- **Prevención de la salida de inhibidores del embrión:** Existen muchos compuestos químicos ubicados en diferentes partes de la semilla o unidades de dispersión. Sin embargo, todavía no se sabe que rol juegan en la inhibición de germinación, porque falta conocer la relación entre el contenido y la acción fisiológica (Bewley *et al.*, 2013). Por otro lado, algunas semillas logran germinar después de lavarlas, lo que indica que en su cubierta se encuentra inhibidores químicos (Fowler y Bianchetti, 2000). Un estudio realizado de la semilla *Arabidopsis* ha demostrado que se puede influenciar la dormancia a través de la mutación, puesto que, en el experimento realizado se obtuvieron semillas con cubiertas de testa transparente (tt) mediante la mutagénesis. Luego, las semillas mutantes como las no mutantes se sometieron a sal

de tetrazolio, resultando que las no mutantes mostraron dormancia e impermeabilidad al tetrazolio. En cambio, las mutantes tuvieron mayor permeabilidad al tetrazolio y su dormancia fue menor, esto posiblemente está relacionado con una reducción o ausencia de taninos condensados y la contracción asociada de las células de la testa (Bewley *et al.*, 2013).

## **b. Causas de dormancia embrionaria**

Bewley *et al.* (2013) plantea 4 causas dentro del embrión que no permiten la germinación y son los siguientes:

- **Embrión indiferenciado:** Se da en familias como *Orchidaceae* y *Orobanchaceae*. Por ejemplo, las semillas de orquídeas no tienen endospermo y tienen un pequeñísimo embrión que necesita de fuentes externas, como plantas parásitas o asociaciones fúngicas para poder nutrirse y completar su desarrollo, así poder germinar. Generalmente un embrión indiferenciado no se considera como dormante.
- **Embrión inmaduro:** Es decir, no se expande ni acumula reservas alimenticias y suelen tener mucho tejido de endospermo que incrusta al pequeño embrión. Este embrión necesita desarrollarse dentro de la semilla antes de la germinación. Por ejemplo, en especies como, el café, zanahoria y apio, el endospermo se digiere enzimáticamente junto con el crecimiento del embrión después de la dispersión y maduración. Por lo tanto, la salida de la radícula se da cuando el embrión haya logrado su expansión y el endospermo haya terminado de degradarse.
- **Inhibidores químicos:** Se presentan dos factores principales, los cotiledones y las sustancias inhibitoras. Según investigaciones en algunas especies se ha demostrado que cuando se quita los cotiledones o reduce la cantidad de tejido cotiledóneo, el embrión logra desarrollarse y germinar, lo que confirma que los cotiledones tienen un efecto inhibitor que son trasladados a la radícula evitando su crecimiento (Bewley *et al.*, 2013; Fowler y Bianchetti, 2000). Además, es posible que los cotiledones al entrar en contacto con el sustrato húmedo, dispersa al inhibidor químico al medio, evitando así la germinación de la semilla. Hay suficiente evidencia en la manzana y



la cebada, cuyos cotiledones contienen ABA que libera hacia la radícula y evita su crecimiento. Asimismo, en el caso de la flor de girasol donde se ha demostrado que tratándolas con fluridona, un inhibidor de la síntesis del ABA, logra romper la dormancia.

- **Restricciones fisiológicas:** Aquí se nombra a la dormancia fisiológica, que es amplia, reversible y está en el embrión. Ésta, se mantiene gracias al ABA, mientras que el GA es quien induce la germinación. Por tanto, la relación entre ABA y GA tiene la decisión de suprimir o incentivar la dormancia.

### **2.2.5. Metabolismo energético de semillas dormantes**

Según estudios realizados en la etapa de la emergencia de la radícula, resulta que la respiración de semillas dormantes y no dormantes son similares. Así, por ejemplo, en semillas dormantes y maduras de *Xanthium* y avena silvestre se ha demostrado similar consumo de oxígeno hasta la salida de la radícula y en semillas de *Sisymbrium officinale*, el consumo de oxígeno y dióxido de carbono no están relacionados en la ruptura de dormancia primaria o secundaria. Entonces, el contenido de ATP en semillas dormantes y no dormantes también es similar, pero su distribución dentro del embrión es diferente, esto se demuestra en semillas dormantes de tomate que tienen menor cantidad de ATP en la radícula que las semillas no dormantes. Además, en semillas de lechuga se reporta que su respiración aumenta en la germinación cuando salen de la dormancia secundaria, pero este aumento es menor que cuando sale de la dormancia primaria. Por otro lado, las semillas dormantes tienen menor cantidad de fructosa-2,6-bisfosfato que las no dormantes, aunque se desconoce la importancia de este compuesto en la dormancia y si esta generalizado para todas las especies (Bewley *et al.*, 2013).

### **2.2.6. Relación entre dormancia y genética**

Según Bewley *et al.* (2013), los estudios de hibridación con líneas puras dormantes y no dormantes han revelado que la dormancia de las semillas puede estar controlada por los genotipos parentales tanto maternos como paternos (p.15). Se ha descubierto un gen DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1) que es un regulador de la dormancia primaria, se encarga de mejorar la señalización y sensibilidad del ABA e interfiere en la germinación, pero este regulador no solo actúa a nivel de dormancia, sino también interviene en la maduración de

la semilla, floración y tolerancia a la sequía, aunque faltan más estudios sobre su mecanismo y control (Carrillo *et al.*, 2020). Un estudio realizado en el genoma del trigo permitió identificar 84 genes de la familia CPK que también se encuentran en otras especies, 11 de ellos denominados TaCPK podrían estar relacionados con germinación y dormancia, en especial el gen TaCPK40, ya que dicho gen en *Arabidopsis* es un impulsor positivo de la germinación y disminuye la sensibilidad al ABA durante la germinación (Mingli *et al.*, 2023).

### **2.2.7. Medio ambiente y la dormancia**

Los factores inductivos de la germinación como la luz, la temperatura que las semillas necesitan todo el tiempo para germinar, también influyen en la dormancia (Vleeshouwers *et al.*, 1995). Los factores ambientales principales que interviene en la dormancia son el suelo, la temperatura y la luz.

#### **a. El suelo**

Influye en la dormancia por el contenido de nitrato que tenga disponible para la planta madre en el momento de formación de semillas, ya que la planta absorbe y transporta este anión a las semillas. Por tanto, la cantidad de nitrato que las semillas secas puedan contener está vinculada directamente con la cantidad de nitrato en el suelo durante su desarrollo, como también interviene la humedad del suelo, el transportador de nitrato específico de la semilla, pero todavía falta información sobre la influencia de otros nutrientes en la dormancia (Bewley *et al.*, 2013). La acción del nitrato es significativa principalmente para aquellas semillas fotosensibles como *Sisymbrium officinale* (Vivian *et al.*, 2008).

#### **b. Temperatura**

En algunas especies la baja temperatura induce a la dormancia de las semillas, como es el caso de la rosa, avena silvestre, trigo y cebada. En un estudio llevado a cabo en semillas de *Arabidopsis* que se desarrollan en baja temperatura, presentan dormancia alta y las que se desarrollan en alta temperatura presentan dormancia baja. En cambio, hay especies que son inducidas a la dormancia por temperatura alta, por ejemplo, el caso de *Syringa vulgaris* que a una temperatura alta durante la maduración de la semilla hace que el endospermo sea más duro imponiendo la dormancia (Bewley *et al.*, 2013). Otro estudio en ecosistemas mediterráneos menciona que el calor de los incendios forestales rompe la dormancia física

en varias especies, y la temperatura de verano determinan umbrales de calor más bajos para garantizar la permanencia del banco de semillas entre incendios (Zomer *et al.*, 2022).

### **c. Luz**

En el caso del género *Chenopodium*, se ha reportado que cuando las plantas fecundas se encuentran en días cortos, generan semillas más grandes, sin dormancia y con cubiertas más delgadas, a diferencia de las plantas fecundas que están en días largos, las cuales son más pequeñas y poseen cubiertas más gruesas, expresando dormancia. Asimismo, las semillas de *Arabidopsis* maduras en condiciones de días cortos tienen menos dormancia que las que maduran en días largos. Por otro lado, en semillas *Arabidopsis* maduras con luz fluorescente blanca pierden la dormancia después de la cosecha. En cambio, con luz incandescente (luz roja lejana) la dormancia dura meses, y lo mismo sucede en pepino que con luz roja lejana se inactiva la semilla (Bewley *et al.*, 2013).

## **2.3. TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS**

### **2.3.1. Giberelina**

Las giberelinas (GAs) fueron descubiertas en la década de los 30 por científicos japoneses, a través de una enfermedad del arroz denominada *Bakanae*, que provocaba que las plantas de arroz crecieran muy altas sin producir semillas. La causa de esta enfermedad se debió a un compuesto químico que secretan unos hongos que después lo llamaron *Gibberella fujikuroi*. Este compuesto fue apartado por los científicos y la denominaron giberelina. En el periodo de 1950 a 1960 los científicos ingleses indagaron la estructura de este compuesto y la llamaron ácido giberélico. En la misma época en Tokio a partir de la giberelina inicial identificaron 3 tipos de giberelina A1, A2 y A3, siendo este último muy parecido al ácido giberélico. Luego se realizaron ensayos con ácido giberélico puro con resultados positivos en el crecimiento en maíz y guisante enano, pero en plantas altas no hubo ningún cambio, por ello se le conoce como el regulador de altura de tallos (Taiz y Zeiger, 2006). En los años siguientes se descubrió que las plantas superiores también tienen giberelina y hasta hoy se han caracterizado 136 giberelinas (GAs) de vegetales y hongos, siendo el número de subíndice el orden de descubrimiento y no una relación entre ellas. Las giberelinas son un grupo de familia donde todas están basadas en un anillo de ent-giberelano, donde algunos tienen 19 y otros 20 carbonos (Iglesias y Talón, 2013).

### **a. Efectos fisiológicos**

Esta hormona vegetal se forma internamente en las plantas, siendo más sintetizada en el proceso de germinación y desarrollo apical. En ese sentido juega un papel importante, ya que actúa en 2 niveles. A nivel vegetal en el desarrollo y elongación de tejidos (raíces, hojas), y en la inducción de la floración. En segundo lugar, a nivel de célula impulsa el crecimiento embrionario y el alargamiento celular, induciendo la germinación de semillas (Alcántara *et al.*, 2019). De hecho, cuando empieza la germinación en cereales, el embrión busca suplir el alimento necesario para lograr el crecimiento celular, por ello, sintetiza el ácido giberélico liberándolo hacia el endospermo. Este tejido está rodeado por la capa de aleurona, cuya función es sintetizar la enzima hidrolítica  $\alpha$ -amilasa, que es la responsable de degradar el almidón que se encuentra en el endospermo, para luego ser absorbidas por las partes en crecimiento. Sin embargo, este proceso no se lograría sin el ácido giberélico, ya que se ha demostrado que es el activador de las enzimas hidrolíticas para que sean liberadas (Taiz y Zeiger, 2006). Así también, las giberelinas activan a las  $\beta$ -endomananasas que degradan parte de la pared celular de tejidos que cubren al embrión, de esta manera ayuda a la emergencia de la radícula (Herrera *et al.*, 2006; Matilla, 2013). Además, factores como el fotoperiodo influyen en la síntesis de giberelina dependiendo de la especie. Por ejemplo, la espinaca es una especie de fotoperiodo largo y, bajo estas condiciones tiende a aumentar los niveles de AGs, pero bajo fotoperiodo corto estos niveles disminuyen. En cambio, en las especies de días cortos sucede lo contrario, y otras que no necesitan fotoperiodo denominadas neutras (Iglesias y Talón, 2013).

Por otro lado, las giberelinas tienen una fitohormona antagonista que es el ácido abscísico (ABA). Según Alcántara *et al.* (2019) “el ABA es sintetizada en tejidos jóvenes como el endodermo de plantas madre y en la testa de la semilla” (p.112). Se encarga de promover la dormancia porque inhibe la germinación de semillas limitando la disponibilidad de metabolitos y energía (Matakiadis *et al.*, 2009). Esta fitohormona se establece en la etapa de maduración de la semilla y se ha investigado que semillas mutantes que no sintetizan el ABA desarrollan embriones verdes y no toleran la desecación (Chahtane *et al.*, 2017). Se menciona que ambas son antagonistas porque el ácido giberélico induce a que la capa de aleurona sintetice enzimas hidrolíticas para iniciar la germinación y el ABA inhibe la formación de estas enzimas, ya que es reguladora e inductiva de la dormancia (Taiz y Zeiger, 2006).

### 2.3.2. Nitrato de potasio

El nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ), surge naturalmente de depósitos de salitre, como los ubicados en la Pampa del Tamarugal y el desierto de Atacama en Chile. En este lugar se encuentran millones de toneladas de salitre del cual se derivan muchos productos, por ejemplo, nitrato sódico, nitrato de potasio, yodo, salitre potásico entre otros (Garces, 2000). Sin embargo, al paso de los años la producción del  $\text{KNO}_3$  ha disminuido y su precio se ha elevado, esto debido a la competencia de otros productos sintéticos como el nitrato de calcio, la urea y en especial el cloruro de potasio ( $\text{KCl}$ ) que está siendo muy utilizado y tiene un precio más económico, por ello el nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) está enfocado para cultivos de alta rentabilidad. Actualmente el  $\text{KNO}_3$  es empleado en distintas industrias desde la agricultura, como fertilizante hasta en plantas de concentración de energía solar (Palomino, 2015). En la agricultura es muy empleada porque incrementa la calidad y rendimientos de los cultivos, con la ventaja de ser muy soluble en agua y libre de cloruro (Balam, 2023).

#### a. Nitrato y la dormancia

De acuerdo, a los estudios realizados en semillas de *Arabidopsis* el nitrato de potasio se comporta como un factor ambiental al igual que la temperatura, por lo que su aplicación exógena logra bioestimular la germinación y las plantas madre que tuvieron mayor disponibilidad de nitrógeno después de la floración generaron semillas con menor dormancia, esto se debe a que el nitrato actúa como una señal mejorando la síntesis de ácido giberélico y disminuyendo el ABA durante la imbibición de las semillas (Alboresi *et al.*, 2005). En otro estudio Matakias *et al.* (2009) señalan que esta disminución de ABA en semillas de *Arabidopsis* ocurre cuando se aplica nitrógeno exógeno a las semillas y también cuando se suministraba nitrógeno a la planta madre, es decir, nitrógeno endógeno, en este experimento se descubrió el papel fundamental del gen catabólico ABA *CYP707A2*, cuya función es degradar al ABA durante la imbibición de las semillas y está regulada por el nitrato exógeno y quizás endógeno. Además, observaron que las semillas tratadas con nitrato eran más resistentes al ABA exógeno que las que solo fueron embebidas con agua.

Por otra parte, Chahtane *et al.* (2017) indica que la temperatura influye mucho más en la dormancia que el nitrato. Según la investigación realizada por Toorop, (2015) en semillas de *Sisymbrium officinale* (L.) se demostró que el nitrato está involucrado en la dormancia a través de la ruptura del tegumento (testa) causando una absorción adicional de agua y el

alargamiento de la semilla antes de la ruptura del endospermo. The International Seed Testing Association (ISTA) sugiere el uso del nitrato de potasio como uno de los tratamientos para romper la dormancia fisiológica en una concentración de 2 gramos por litro de agua sobre el sustrato donde se colocará las semillas a condiciones de laboratorio (ISTA, 2022). En este sentido, existen varias investigaciones en semillas con el tratamiento de nitrato de potasio con resultados positivos sobre la germinación. Por ejemplo, en semillas de agraz (*Vaccinium meridionale*), donde el uso de  $\text{KNO}_3$  a concentración de 0.2-0.5 g/L, logró el incremento de los porcentajes de germinación (Ligarreto y Magnitskiy, 2007).

### **2.3.3. Ácido sulfúrico**

Hace mucho tiempo era denominado aceite de vitriolo o licor de azufre, es un compuesto químico corrosivo, tóxico y peligroso de color incoloro a marrón. La mayor producción se encuentra en el continente europeo y los principales países productores son Alemania, España y Francia. Actualmente es usado en diversas industrias desde fertilizantes, textiles, metalurgia entre otras (Romero, 2008).

#### **a. Ácido sulfúrico y la dormancia**

Debido a su propiedad corrosiva, el ácido sulfúrico es uno de los tratamientos más utilizados para la liberación de la dormancia exógena ya sea física o química, es decir, a nivel de la cubierta de la semilla, permitiendo su germinación (Willan, 1991). A manera de ejemplo, en semillas de *Guaiacum coulteri*, una especie del bosque tropical de México que presenta dormancia física, se empleó 2 métodos de pretratamientos, el primero fue con papel lija y el segundo con 5 a 10 minutos de inmersión en ácido sulfúrico. Ambos dieron resultados positivos en la velocidad y porcentaje de germinación final, debido a que adelgazaron la testa de la semilla (Sánchez *et al.*, 2017). En ensayos realizados en semillas de *Ochroma pyramidale* se demostró que las semillas sumergidas en ácido sulfúrico por 32 minutos acusan 73 % de germinación y con agua caliente 68 %, a diferencia del testigo que dió menos del 24 % de germinación (Herrero y Ramiro, 1999). Incluso The International Seed Testing Association (ISTA) sugiere el uso del ácido sulfúrico como tratamiento para romper la dormancia, a través del remojo de las semillas en un tiempo necesario de acuerdo con cada especie (ISTA, 2022).

### 2.3.4. Ecovida Lactodefense

Es un producto que tiene más de 12 años en el mercado nacional. Tiene como ingrediente activo un consorcio de bacterias lácticas principalmente *Lactobacillus* sp, contiene levaduras, ácido láctico, ácidos orgánicos, macro y microelementos. En la agricultura tiene un amplio beneficio, entre ellos, la capacidad de bioestimular la germinación y el crecimiento de las plantas (Ecocampo, 2009).

**Tabla 2: Resultados de análisis de laboratorio de microbiología del Ecovida**

Análisis microbiológico	Muestra 1306146
Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp. (UFC/g)	52 x 10 <sup>5</sup>

*Nota.* En el recuento de *Lactobacillus* se encontró 52x10<sup>5</sup> *Lactobacillus* sp por 1000 mL de muestra.

FUENTE: Ecocampo (2009)

#### a. Bacterias Ácido-Lácticas (BAL)

Conjunto de microorganismo gram positivos que no producen esporas, son anaerobios y no poseen flagelos (no móviles), representados por géneros que por lo general son los cocos y bacilos (Ramírez *et al.*, 2011). Estas bacterias son utilizadas desde hace mucho tiempo para la obtención de alimentos fermentados y por la capacidad que poseen para inhibir microorganismos perjudiciales, a través de un conjunto de antimicrobianos como las bacteriocinas, aumentando la vida útil de los alimentos (Hernández *et al.*, 1993). La actividad principal de las BAL es la descomposición de los carbohidratos, a través de la fermentación liberando primordialmente un compuesto llamado ácido láctico, también degradan proteínas a través de la proteólisis generando medio de crecimiento para los *Lactobacillus* y *Lactococos*, además degradan lípidos y otros compuestos (Hayek e Ibrahim, 2013).

En las últimas décadas se ha estudiado su relación con la agricultura revelando que poseen una gran capacidad para ser empleadas como bioestimulantes ya que impulsan el crecimiento de plantas y la germinación de semillas, también tienen un potencial como biofertilizantes debido a que acelera la descomposición de materia orgánica liberando nutrientes de forma más rápida para ser asimilada por las plantas (Lamont *et al.*, 2017). Además, son buenos como agentes de biocontrol porque producen una variedad de compuestos antimicrobianos y dentro de ellos tenemos los antifúngicos, bacteriocinas antibacterianas y antimicrobianos generales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, entre otros (Stoyanova *et al.*,

2012). Otras investigaciones también indican que las BAL ayudan a que las plantas puedan responder mejor frente al estrés abiótico como la deshidratación, niveles de sal y altas temperaturas, a través de mecanismos que aún faltan ser descifrados (Jaffar *et al.*, 2023).

Respecto al ácido láctico se viene empleando en distintos rubros de la industria con una demanda de 130000 a 150000 t/año (Ghaffar *et al.*, 2014). En los últimos años las investigaciones apuntan a la producción de ácido láctico a través de procesos de biotransformación de residuos orgánicos, por ejemplo, en un estudio en México se obtuvo ácido láctico a partir del bagazo y cáscara de naranja junto a un hongo denominado *Rhizopus oryzae* (Gil *et al.*, 2008). Asimismo, se puede obtener polímeros biodegradables de ácido láctico a partir de residuos de naranja con la finalidad de reemplazar la tecnología del petróleo en un futuro, debido a la contaminación que esta genera (Torres, 2019).

## **2.4. GERMINACIÓN**

La germinación es un proceso complejo donde la semilla debe completar una serie de eventos celulares para lograr la emergencia de la radícula y el crecimiento de una plántula (Nonogaki *et al.*, 2010). Por tanto, consiste en reiniciar el crecimiento del embrión que fue detenido cuando la semilla alcanzó su madurez fisiológica (Peretti, 1994). De la Cuadra (1992), menciona que la germinación comienza desde el crecimiento del embrión hasta lograr una plántula normal que puede vivir por sí sola. Esto se considera siempre y cuando hablemos del criterio agronómico, ya que, según la germinación fisiológica, es decir, en condiciones de laboratorio, este proceso termina cuando la semilla rompe la cubierta seminal y emerge la radícula (Pérez y Pita, 1998).

### **2.4.1. Proceso de la germinación**

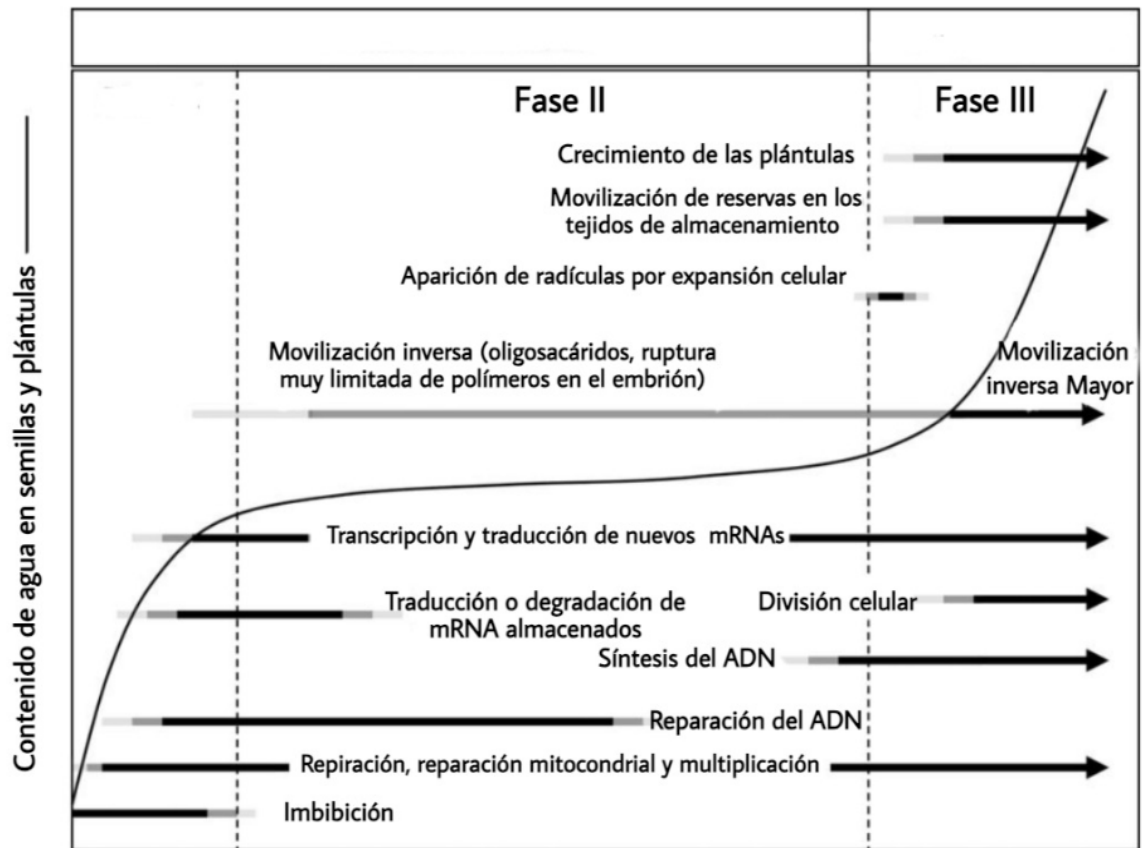
**Fase I, Imbibición:** se refiere a la toma de agua por la semilla durante un tiempo determinado que va a depender de cada especie, por ejemplo, el apio lo hace en 30 minutos y otras pueden hacerlo en 3 horas como los guisantes (Pérez y Pita, 1998). Entonces el agua atraviesa la testa llegando hasta el embrión, para que pueda iniciar los siguientes procesos (De la Cuadra, 1992). En esta fase se produce la hinchazón de la semilla y se da en aquellas dormantes y no dormantes (Nonogaki *et al.*, 2010). Las semillas viables y no viables también absorben agua (Ronco *et al.*, 2011).



**Fase II, Activación metabólica:** primordialmente es una fase de síntesis de compuestos que servirán para las siguientes fases, por ello se consume energía (Herrera *et al.*, 2006). Además, muchas enzimas se activan entre ellas las hidrolíticas que son las que degradan la reserva alimenticia (almidón, proteína y lípidos) que es consumido por el embrión para que pueda desarrollarse (De la Cuadra, 1992; Ronco *et al.*, 2011).

**Fase III, Germinación visible:** en esta fase se da la emergencia de la radícula, para ello debe atravesar capas como el endospermo y la testa. El debilitamiento de estas capas que rodean a la radícula, en algunos casos es controlado por el endospermo ya que el mismo libera enzimas (*B-mananasa*, *galactosidasa* y *B-manosidasa*) que degradan ciertos polímeros de las paredes del endospermo (Herrera *et al.*, 2006). Esta emergencia indica que terminó la germinación y dará paso al desarrollo de la plúmula que es el otro extremo del embrión, para luego convertirse en tallos y hojas (Matilla, 2013; Ronco *et al.*, 2011).

A continuación, la siguiente figura muestra en resumen las fases de la germinación en sentido estricto:



**Figura 2: Fases de la germinación**

*Nota.* Acontecimientos físicos y metabólicos que tienen lugar durante la germinación (Fases I y II) y el crecimiento temprano de las plántulas (Fase III). El tiempo necesario para que se produzcan estos acontecimientos varían según las especies y dependen de las condiciones de germinación. La curva muestra la absorción de agua durante la germinación. Adaptado de “Germination—Still a mystery” (p. 575), Nonogaki *et al.*, (2010), *Plant Science*, 179 (6).

### 2.4.2. Factores externos en la germinación

Dentro de las condiciones externas se tiene el agua, luz, oxígeno, CO<sub>2</sub> y temperatura.

- a. **Agua:** Cuando la semilla absorbe agua desencadena una serie de reacciones metabólicas, como respiración, síntesis y translocación de reservas, resultando así la germinación (Gaston de Iriarte, 2017). La cantidad de agua que requiere la semilla varía entre especies incluso dentro de la misma especie, por lo que se debe tener en cuenta la humedad del sustrato (Herrera *et al.*, 2006). Por otro lado, es importante mencionar que los factores internos también influyen en la absorción de agua, como la madurez de la semilla, por ejemplo, en el caso del maíz una semilla inmadura

absorbe más agua que una madura. Así también, las semillas que tienen mayor cantidad de proteínas y edad absorben más agua con mayor rapidez (Courtis, 2013).

- b. Luz:** La importancia de la luz radica en los receptores llamados fitocromos, estas son proteínas solubles que se encuentran en las semillas y otras partes de la planta. Tienen como función principal captar la señal luminosa y llevar esta información hacia otras partes de la célula que tendrá como consecuencia la germinación de la semilla. Esto se logra gracias a que los fitocromos se encuentran de dos formas, la inactiva porque absorbe luz roja y la activa (Pfr) de mayor energía que absorbe luz roja lejana (Martínez *et al.*, 2002). Esta última forma activa (Pfr) es la encargada de incentivar la germinación a través de la luz. A pesar de que, varias especies necesitan de luz para germinar, también están aquellas que no, ya sea porque dentro de la semilla ya está la forma activa (Pfr) o simplemente no necesita (Herrera *et al.*, 2006).
- c. Temperatura y oxígeno:** La importancia de la temperatura radica en las enzimas, ya que cada acción que éstas realizan requiere un rango de temperatura máxima y mínima, para poder regular la velocidad de las reacciones bioquímicas después de la absorción de agua (Gastón de Iriarte, 2017). Entonces las especies de origen tropical requieren altas temperaturas para salir del estado de reposo, mientras que las de clima templado necesitan un periodo más largo de baja temperatura para germinar (Herrera *et al.*, 2006). Además, la temperatura interviene en la solubilidad del O<sub>2</sub> en el agua, debido que a mayor temperatura la solubilidad disminuye. Esto afecta porque para que se logre la germinación es necesario que el oxígeno ingrese hasta el embrión. Sin embargo, la mayoría de las especies germinan con 21 % de O<sub>2</sub> y otros casos solo con 8 % (Gastón de Iriarte, 2017). Según Vega (2013), “la temperatura óptima para la germinación de semillas de espárrago es de 24 °C a 30 °C, con muy baja temperatura no germinan y con muy alta temperatura se deshidratan, por eso la siembra se debe realizar en verano y primavera”. (p. 9)
- d. O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>:** La mayoría de las especies necesitan 0.03 % de CO<sub>2</sub> y 21 % de O<sub>2</sub> para que puedan germinar, pero también hay especies que germinan con menos de dicha concentración de O<sub>2</sub> (Gastón de Iriarte, 2017). Las semillas durante la germinación requieren baja concentración de O<sub>2</sub> (2.5 % a 5 %). Sin embargo, la cantidad de CO<sub>2</sub>

no puede ser mayor a la del O<sub>2</sub>, porque inhibe la germinación (Herrera *et al.*, 2006). Por ejemplo, en condiciones *in vitro* en café y *Clematis* la semilla llega a germinar con concentraciones de 2.5 % y 5 % de CO<sub>2</sub> y 21 % de O<sub>2</sub>, pero con 10 % CO<sub>2</sub> se produce malformaciones y se inhibe la germinación de semillas (Barbon *et al.*, 2017).

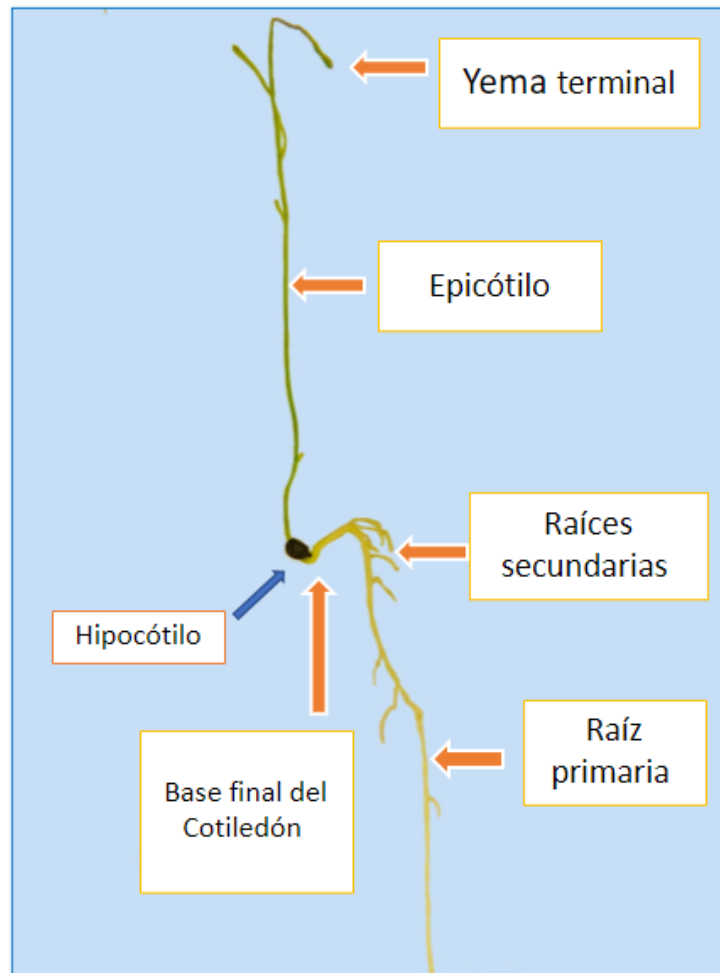
#### **2.4.3. Germinación hipógea**

El espárrago tiene este tipo de germinación hipógea, el hipocótilo no se desarrolla y los cotiledones quedan bajo tierra encargándose de llevar reservas hacia las demás partes, en algunos casos cubiertas por la testa, y el epicótilo se alarga dando lugar a las primeras hojas que solo almacenan nutrientes (Vásquez *et al.*, 1997).

#### **2.5. ESTRUCTURAS ESENCIALES DE LAS PLÁNTULAS DEL ESPÁRRAGO**

Según la ISTA (2009), el espárrago pertenece al grupo de plántulas tipo C, que a diferencia de otras especies del mismo género su raíz primaria es más delgada y sus raíces secundarias no suelen desarrollarse durante la prueba y presenta las siguientes estructuras esenciales:

- La raíz primaria
- El sistema de lanzamiento (hipocótilo y la parte basal del cotiledón)
- El brote terminal



**Figura 3: Partes de una plántula de espárrago**

*Nota.* Raíz primaria delgada con pequeñas raíces secundarias, un hipocótilo muy corto, seguido de la parte basal del cotiledón y el epicótilo alargado dando lugar a la yema terminal.

## 2.6. PLÁNTULAS NORMALES

De acuerdo con la ISTA (2022) estas plántulas tienen el potencial de desarrollarse generando plantas provechosas, bajo buenas condiciones. Dentro de este grupo se tiene las siguientes categorías:

- Plántulas intactas: tienen la estructura completa y bien desarrollada.
- Plántulas con defectos leves: estas tienen defectos ligeros en las estructuras esenciales, pero están balanceados y permiten que se desarrollen con normalidad.
- Plántulas con infección secundaria: aquellas afectadas por hongos o bacterias que vienen de distintas fuentes, pero no es de la propia semilla.

## 2.7. PLÁNTULAS ANORMALES

De acuerdo con la ISTA (2022), son aquellas que no tienen el potencial para desarrollarse como una planta normal bajo condiciones adecuadas según la especie. Dentro de este grupo se tiene las siguientes categorías:

- Dañadas: tienen alguna de sus estructuras esenciales ausentes o muy dañada generando un desarrollo desbalanceado.
- Deformadas o desbalanceadas: presentan desarrollo débil o estructuras esenciales deformadas o con alteraciones fisiológicas.
- Podridas: aquellas que presentan estructuras esenciales enfermas o podridas por una infección propia de la semilla, es decir, primaria que no permitirá un desarrollo normal.

## 2.8. SEMILLAS NO GERMINADAS

Dentro de este grupo se encuentra la siguiente clasificación (ISTA, 2022):

- **Semillas frescas:** son aquellas semillas que logran absorber agua y no germinan debido a la dormancia que posee. Además, tienen el potencial de desarrollar una plántula normal.
- **Semillas duras:** aquellas que no llegan absorber agua al final de la evaluación. Esta dureza es una manera de dormancia.
- **Semillas muertas:** aquellas semillas que absorben agua, pero no tienen ningún signo de desarrollar plántulas, y en la mayoría son mohosas, a veces blandas o descoloridas.

## 2.9. VIABILIDAD

De acuerdo con Dorian (2010), la viabilidad “es el periodo mientras la semilla conserva su capacidad de germinación. Este periodo es muy variable puesto que depende de cada especie y como se encuentren almacenadas”. La viabilidad de una semilla depende de condiciones externas (temperatura) y condiciones internas de la semilla como su genética, contenido de humedad entre otros.

Para conocer la viabilidad de las semillas se realiza una prueba con cloruro o bromuro de 2,3,5-trifeniltetrazolio, esta es una solución incolora, que al ponerse en contacto con una semilla viable se reduce formando trifenilformazán, que es de color rojo fuerte y estable, lo cual hace posible distinguir parte viva de la semilla pintándola de rojo y el tejido no vivo se mantiene decolorado. Sin embargo, existe casos donde los tejidos se tiñen de forma parcial, es por ello, que los patrones de evaluación dependen de cada especie (ISTA, 2022; Pérez y Pita, 1999b).

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN DEL EXPERIMENTO**

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Nacional de Investigación en Semillas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) en setiembre del 2022, ubicado geográficamente con una longitud de 76° 56' 43'', latitud de 12° 04' 36'' y a una altitud de 240 m.s.n.m. en el distrito de La Molina, provincia de Lima, Perú.

#### **3.2. MATERIALES Y EQUIPOS**

##### **a. Materiales**

- Agua destilada
- Ácido sulfúrico
- Ácido giberélico
- Cloruro 2,3,5 trifeniltetrazolio
- Ecovida Lactodefense (consorcio de bacterias lácticas).
- Nitrato de potasio al 0.2 %
- Papel toalla
- Semillas de espárrago
- Etiquetas

##### **b. Equipos**

- Cabina de germinación Seedburo
- Cámara de celular Galaxy A32
- Beakers
- Picetas



### **3.3. MUESTRA DE TRABAJO**

Se utilizaron semillas de espárrago del cultivar UC-157 F2 Hyb, compradas de la empresa Sierra Seed, dedicada a la venta de semillas. Las semillas fueron envasadas en 2021. Se utilizaron 2000 semillas en la primera parte del experimento divididas en 5 tratamientos. La segunda parte del experimento fue el ensayo de viabilidad, donde se utilizaron 400 semillas.

### **3.4. VARIABLES ESTUDIADAS**

#### **3.4.1. Porcentaje de germinación fisiológica (PG)**

Es el número de semillas que lograron la emergencia de la radícula, también denominada germinación visible en relación con número total de semillas en la repetición por cien (Herrera *et al.*, 2006; Pérez y Pita, 1998).

$$\text{PGF} = [\text{Gn}/\text{Nn}] \times 100$$

Donde: Gn = Número de semillas germinadas

Nn = Número de total de semillas por repetición

#### **3.4.2. Porcentaje de plántulas normales (PPN)**

El número de plántulas consideradas con capacidad de lograr un desarrollo óptimo, con relación al número total de semillas utilizadas en la repetición por cien. La evaluación fue de acuerdo con las normas ISTA (2022).

$$\text{PPN} = \text{Pn}/\text{N} \times 100$$

Donde:

Pn = Número de plántulas normales

N = Número de total de semillas por repetición

#### **3.4.3. Porcentaje de plántulas anormales (PPA)**

El número de plántulas que no tienen la capacidad de un desarrollo normal con relación al número de semillas utilizadas en la repetición por cien. La evaluación fue de acuerdo con las normas ISTA (2022).

$$PPN = Pn/N \times 100$$

Donde:

Pn = Número de plántulas anormales

N = Número de total de semillas por repetición

#### 3.4.4. Porcentaje de semillas no germinadas (SNG)

El número de semillas frescas, muertas y duras por cada repetición por cien. La evaluación fue de acuerdo con las normas ISTA (2022).

$$SNG = Ng/N \times 100$$

Donde:

Ng = Número de semillas no germinadas (frescas, duras y muertas)

N = Número de total de semillas por repetición

### 3.5. TRATAMIENTOS EVALUADOS

Se evaluaron cinco tratamientos: cuatro productos para superar la dormancia y un testigo en blanco (Tabla 3). Las dosis o concentraciones y formas de aplicación del ácido giberélico y nitrato de potasio están de acuerdo con la ISTA (2022). En cuanto al ácido sulfúrico la concentración y tiempo de remojo se aplicaron en base a criterio propio, ya que la ISTA (2022) solo menciona la forma de aplicación. La dosis y aplicación del Ecovida están de acuerdo con las especificaciones del mismo producto.

**Tabla 3: Especificaciones de los tratamientos aplicados en semillas de espárrago**

Tratamientos	Dosis	Tiempo de remojo	Aplicación
Ácido sulfúrico	75 %	10 segundos	semillas
Ácido giberélico	0.1 %	...	sustrato
Nitrato de potasio	0.2 %	...	sustrato
Ecovida (bacterias ácido-lácticas)	5 mL/L	40 minutos	semillas
Testigo	.....	....	sustrato

*Nota.* El ácido giberélico y el nitrato se aplicaron al sustrato (papel toalla) donde luego fueron colocadas las semillas y el ácido sulfúrico y el Ecovida se aplicaron directamente a la semilla.

### 3.6. METODOLOGÍA

#### 3.6.1. Procedimientos de los tratamientos

En la prueba de germinación se realizaron distintos tratamientos que fueron aplicados de la siguiente forma:

- **Escarificación química con ácido sulfúrico al 75 %**

Las 400 semillas fueron sumergidas y cubiertas totalmente por ácido sulfúrico al 75 % de concentración durante 10 segundos. Inmediatamente después fueron lavadas con agua de grifo por 2 minutos y luego colocadas en el sustrato previamente humedecido con agua de grifo (ISTA, 2022; Peretti, 1994).

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

La solución se preparó disolviendo 2 gramos de  $\text{KNO}_3$  en 1 litro de agua destilada. El papel toalla fue humedecido con esta solución a capacidad de campo, luego se colocaron las semillas (ISTA,2022).

- **Tratamientos con ácido giberélico al 0.1 %**

La solución se preparó disolviendo 1 gramo de ácido giberélico en 1 litro de agua destilada. El papel toalla fue humedecido con esta solución a capacidad de campo, luego se colocaron las semillas (ISTA,2022).

- **Tratamiento con consorcio de bacterias lácticas**

La solución se preparó en un recipiente de plástico con 5 mL de consorcio de bacterias lácticas en un litro de agua destilada. Luego las semillas se sumergieron en dicha solución durante 40 minutos para luego ser colocadas en el papel toalla humedecida con agua de grifo (Ecocampo, 2009).

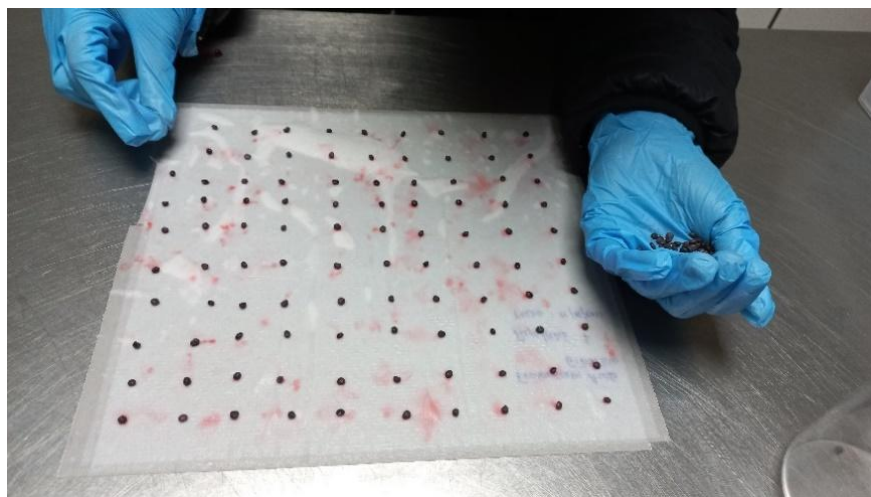
- **Testigo**

Las semillas no recibieron un previo tratamiento, fueron colocadas directamente en papel humedecido con agua de grifo.

### 3.6.2. Ensayo de germinación

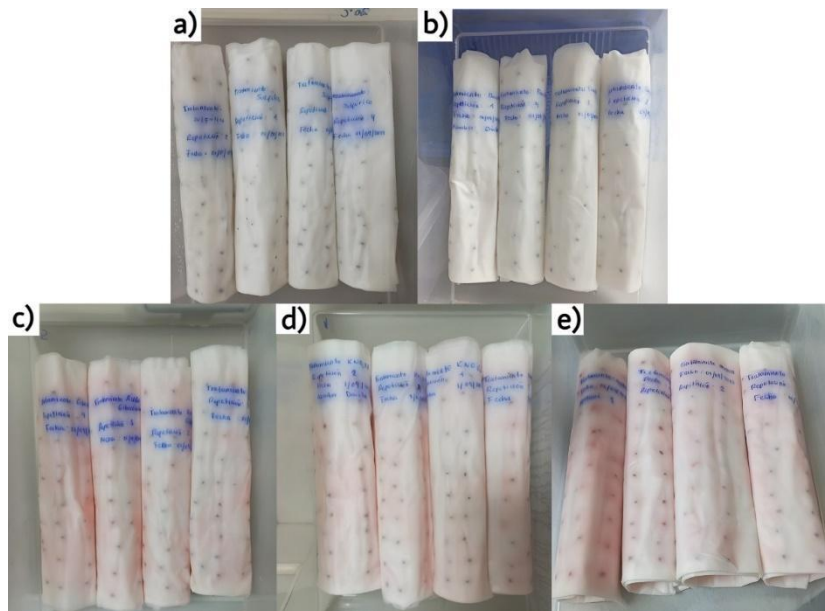
De acuerdo con las normas ISTA (2022), el ensayo de germinación de semillas de *Asparagus officinalis* se desarrolló de la siguiente manera:

- Se tomó una muestra de 2000 semillas al azar
- La muestra fue dividida en 5 grupos para obtener 4 repeticiones de 100 semillas cada uno.
- Las 100 semillas de cada repetición fueron colocadas en un rollo de papel toalla para la germinación.
- Las semillas se colocaron con una adecuada separación sobre el papel toalla totalmente húmedo con agua de grifo (Figura 4).
- Por último, cada papel toalla húmeda con las semillas fue enrollado y las 4 repeticiones por tratamiento se colocaron en tapers medianos con tapa, y estas a su vez se pusieron dentro de una cámara de germinación (Figura 5).



**Figura 4: Distribución de semillas sobre el sustrato**

*Nota.* Las 100 semillas tratadas previamente con ácido sulfúrico fueron colocadas sobre el papel previamente humedecido en una distribución de 10x10.



**Figura 5: Los cinco tratamientos con cuatro repeticiones**

*Nota.* Semillas enrolladas en papel toalla de acuerdo con el tratamiento: a) Semillas embebidas en ácido sulfúrico; b) Semillas en sustrato tratado con bacterias lácticas; c) Semillas en sustrato tratado con ácido giberélico; d) semillas embebidas en nitrato de potasio; e) Semillas sin ningún tratamiento (testigo).

El papel toalla se mantuvo húmedo durante los 28 días que duró el ensayo. La temperatura dentro de la cámara de germinación fue alterna, 20°C durante 18 horas y 30°C durante 6 horas. También se reguló automáticamente la iluminación artificial dentro de la cámara las 24 horas.

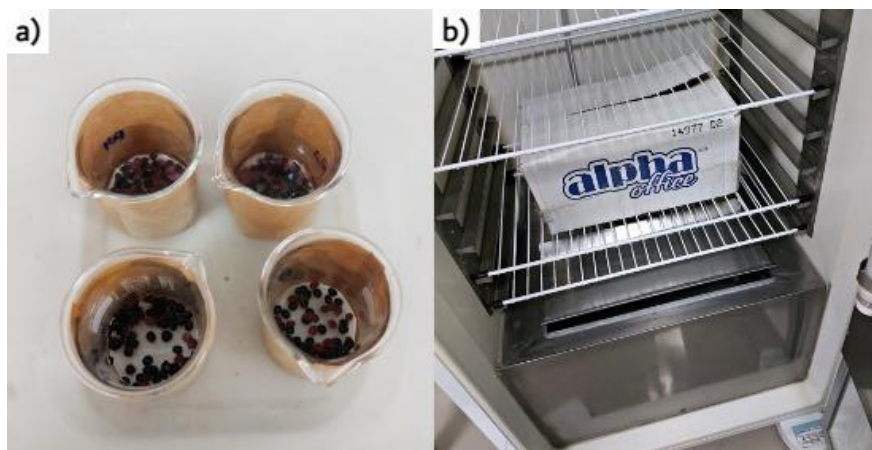
La instalación de la experimentación duró solo un día, el ensayo fue previsto para 28 días. La primera evaluación de la emergencia de radícula se realizó al séptimo día, la segunda evaluación de plántulas normales reducidas se realizó al décimo día. La última evaluación se realizó al día 28 donde se contabilizaron plántulas normales, anormales, semillas muertas, frescas y duras.

### 3.6.3. Ensayo de viabilidad

Los requerimientos para este ensayo se realizaron de acuerdo con las normas ISTA (2022).

- Se tomaron al azar 400 semillas y se dividió en 4 grupos de 100 semillas cada uno.
- Luego se sumergieron las semillas en agua destilada y se colocó en una cámara a temperatura constante de 20° C durante 24 horas (Valdivia, 2015).

- Después del tiempo transcurrido se procedió hacer la prueba del tetrazolio (ISTA, 2003). Para esto se practicó un corte de manera longitudinal en cada semilla, exponiendo el embrión de cada semilla, para que el tetrazolio pueda penetrar.
- Finalmente se prosiguió con la inmersión de las semillas en el cloruro de tetrazolio al 1.0 % durante 18 horas en una cámara a temperatura constante de 30 °C (ISTA, 2003). Cabe señalar que el tetrazolio es sensible a la luz, por ello previamente se forró los frascos y éstos a su vez fueron colocados dentro de una caja, que luego fue llevada a la cámara (Figura 6).



**Figura 6: Prueba de viabilidad**

*Nota.* a) Se muestran las semillas sumergidas en tetrazolio en beakers de 250 ml forrados con papel Kraft. b) Los beakers fueron colocados dentro de una caja para evitar que el tetrazolio se exponga a la luz, y esta a su vez fue colocada dentro de la cámara.

Las evaluaciones de las semillas para determinar la viabilidad se realizaron según el patrón de tinción recomendado por Valdivia (2015) y las pautas de la ISTA de Tetrazolium Testing (2003), tomando en cuenta la uniformidad del embrión.

#### **3.6.4. Diseño experimental**

Se empleó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos con 2 fechas de evaluación: En el séptimo día se evaluaron 5 tratamientos y 4 repeticiones, haciendo un total de 20 unidades experimentales. En el día 28 se evaluaron 4 tratamientos y 4 repeticiones haciendo un total de 16 unidades experimentales, debido a que el tratamiento con ácido sulfúrico se retiró de la prueba en el día 10 por la presencia de hongos.

Se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple Dunnett con 0.05 de significancia para la evaluación de los tratamientos frente a un testigo. Teniendo en cuenta que la prueba Dunnett tiene como fin tomar un tratamiento como testigo y así compararlo con el resto para así evaluar los efectos de los tratamientos sobre el objetivo. Finalmente, se utilizó la técnica Tukey con 0.05 de significancia para comparar los promedios de todos los tratamientos utilizados.

### 3.6.5. Modelo estadístico

El modelo matemático tiene la siguiente estructura:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

- **Porcentaje de germinación fisiológica:**

$Y_{ij}$ : Es el porcentaje de germinación fisiológica obtenidas en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  - ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas – ácido sulfúrico).

$\mu$ : Es el efecto del promedio del porcentaje germinación fisiológica.

$\tau_i$ : Es el efecto del  $i$  – ésimo tratamiento (testigo– ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas – ácido sulfúrico).

$\varepsilon_{ij}$ : Es el efecto del error experimental obtenido en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas – ácido sulfúrico).

- **Plántulas normales:**

$Y_{ij}$ : Es el porcentaje de plántulas normales obtenidas en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  - ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\mu$ : Es el efecto del promedio del porcentaje de plántulas normales.

$\tau_i$ : Es el efecto del  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\varepsilon_{ij}$ : Es el efecto del error experimental obtenido en la  $j$  – ésima repetición (muestra de

semillas de espárrago) con el  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

- **Plántulas anormales:**

$Y_{ij}$ : Es el porcentaje de plántulas anormales obtenidas en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  - ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\mu$ : Es el efecto del promedio del porcentaje de plántulas anormales

$\tau_i$ : Es el efecto del  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\varepsilon_{ij}$ : Es el efecto del error experimental obtenido en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

- **Semillas no germinadas:**

$Y_{ij}$ : Es el porcentaje de semillas no germinadas obtenidas en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  - ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\mu$ : Es el efecto del promedio del porcentaje de semillas no germinadas

$\tau_i$ : Es el efecto del  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

$\varepsilon_{ij}$ : Es el efecto del error experimental obtenido en la  $j$  – ésima repetición (muestra de semillas de espárrago) con el  $i$  – ésimo tratamiento (testigo – ácido giberélico – nitrato de potasio – bacterias lácticas).

### a. Hipótesis Estadística

Hipótesis Nula ( $H_0$ ):

El efecto del tratamiento  $i$  aplicado sobre las semillas de espárrago no difieren significativamente sobre el número de plántulas normales / plántulas anormales / semillas no germinadas obtenidas en el experimento.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = \tau_5 = 0$$

Hipótesis Alternativa ( $H_1$ ):

El efecto del tratamiento  $i$  aplicado sobre las semillas de espárrago difiere significativamente



sobre el número de plántulas normales / plántulas anormales / semillas no germinadas obtenidas en el experimento

$H_1: \tau_i \neq 0$ , para al menos un  $\tau_i$

Para los errores del presente estudio se validaron los supuestos de normalidad y de varianza constante.

### 3.6.6. Análisis de varianza (ANVA)

El esquema del análisis de varianza de este ensayo es explicado en la siguiente tabla:

**Tabla 4: Esquema del análisis de varianza**

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	
Tratamientos	t-1	4
Error Experimental	t(r-1)	12
<b>Total</b>	<b>tr - 1</b>	<b>11</b>

### 3.6.7. Prueba de significación

Se utilizó un nivel de significación del 0.05, tanto en el diseño experimental como en las pruebas de comparación entre tratamientos. Se realizó el análisis de comparación múltiple llamado Dunnet para la evaluación de los tratamientos frente a un testigo. Y finalmente, se utilizó la técnica Tukey para comparar todos los tratamientos utilizados.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. PORCENTAJE DE GERMINACIÓN FISIOLÓGICA

En el séptimo día de evaluación, utilizando un nivel de significancia de 0.05, se encontraron evidencias estadísticas suficientes para afirmar que en al menos uno de los tratamientos hubo un efecto diferenciado sobre el porcentaje de germinación fisiológica. Esto nos indica que uno o más tratamientos son efectivos para lograr mayor porcentaje de germinación visible en semillas de espárrago. Este variable tuvo un coeficiente de variabilidad de 3.57 % (Tabla 5).

**Tabla 5: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación fisiológica**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fcal	Pr > F
Tratamientos	4	10939.00	2734.75	539.7532895	< 0.0001
Error	15	76.00	5.07		
Total	19	11015.00	579.74		
CV	3.57				

Para complementar estos resultados, se realizó un análisis de comparación múltiple de Dunnet con 5 % de significancia, observando que todos los tratamientos tienen un efecto distinto al testigo y el tratamiento con nitrato de potasio y el Ecovida tiene mejor rendimiento (Tabla 6). Esto significa que estos tratamientos resultan ser eficaces para lograr la germinación.

**Tabla 6: Prueba de Dunnet (0.05) para germinación fisiológica**

Tratamiento	Promedio			
<b>TESTIGO</b>	73.25			
Ecovida (bacterias lácticas)	81.75	A		
Nitrato de Potasio	81.25		B	
Ácido Giberélico	60			C
Ácido Sulfúrico	19			D

En la tabla 7, se observa que entre los tratamientos existen diferencias significativas, siendo los mejores resultados, el nitrato de potasio y el Ecovida (bacterias ácido-lácticas). El tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas) coincide con el estudio realizado por Soto *et al.* (2017), quienes indican que las bacterias ácido-lácticas (BAL) provenientes de tres tipos de fermentaciones con papaya, calabaza y banano, al ser inoculadas en bandejas con suelo fértil en el momento de la siembra de semillas de moringa, se obtuvo mayor porcentaje de emergencia en todos los tratamientos respecto al testigo que no recibió ninguna inoculación.

Limanska *et al.* (2013) encontraron una estimulación en la germinación de semillas de tomate, cuando éstas fueron remojadas con *Lactobacillus plantarum*. Apoyando lo mencionado, en un estudio realizado con semillas de trigo inoculadas con 10 cepas diferentes de *Lactobacillus*, se encontró que todas alcanzaron mayor germinación respecto al control, pero una de las cepas denominada *Lactobacillus plantarum* 5, logró mayor germinación (93 %). Además, se observó que esta cepa tiene la capacidad de sintetizar mayor ácido giberélico y ácido indol-3-acético (AIA) que las demás cepas, encontrándose en ella el AG<sub>4</sub> y AG<sub>7</sub> que son las giberelinas más activas, aunque se encontraron en menor concentración (Turaeva *et al.*, 2021). Este descubrimiento explica porque las BAL tienen la capacidad de bioestimular la germinación, puesto que el ácido giberélico no solo estimula el crecimiento y el desarrollo en plantas, sino también la germinación de semillas (Gupta y Chakrabarty, 2013).

Sin embargo, el tratamiento con suspensiones de otra bacteria perteneciente al grupo de microorganismos eficientes en estimular la germinación como *Rhodobacter sphaeroides* (bacteria fotosintética), en plántulas de pepino, generó mayor crecimiento de la planta, aumento significativo de giberelina y disminución de ácido abscísico (ABA), que cuando fueron inoculadas por *Lactobacillus plantarum* (Kang *et al.*, 2015).

Por otro lado, se debe tomar en cuenta que el Ecovida (bacterias ácido-lácticas), además de las bacterias lácticas contiene microelementos que favorecen la germinación. Lo anterior indicado se corrobora con el estudio realizado por Myazin *et al.* (2021), que, al tratar semillas de trigo con microelementos, antes de la siembra logró el aumento de la germinación en campo. Asimismo, el pretratamiento de semillas de arroz de diferentes variedades con microelementos contribuyó al crecimiento radicular y en una de las variedades estudiadas el

Zn favoreció la germinación en los primeros días (Rodríguez y Buitrago, 2019). De igual modo, un estudio realizado en invernadero con semillas de zanahoria y cebolla, a las que se les aplicó microorganismos beneficiosos a través de la técnica del cebado, dio como resultado mayor emergencia en menor tiempo, pero en campo los resultados fueron variables para ambos cultivos (Bennett *et al.*, 2009).

En cuanto al tratamiento con nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ), se puede decir que también mostró un alto porcentaje de germinación fisiológica. Esto lo corrobora Muhammad *et al.* (2020), quienes señalan que el remojo de semilla de dos cultivares de tomate con nitrato de potasio, a una concentración de 0.75 %, ocasionó alta tasa de emergencia para ambos cultivares, tanto en la cámara de crecimiento como en el invernadero. Asimismo, el remojo de semillas de espárrago de la variedad Atlas F1 en una solución con  $\text{KNO}_3$  al 0.1 %, dio resultados positivos en el porcentaje de emergencia (Gómez, 2020).

Por otro lado, un estudio en 3 genotipos de semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), que fueron remojadas en una solución con  $\text{KNO}_3$  al 1 %, dio como resultado una aceleración de emergencia y crecimiento de plántulas (Shehzad *et al.*, 2012). Estos resultados se deben al incremento metabólico y la disponibilidad de nitrógeno y el potasio en la semilla, además del aumento de las  $\alpha$ -amilasas que hidrolizan el almidón y proveen de azúcares para desarrollar el embrión (Shafiei y Ghobadi, 2012). Es importante tener en cuenta que los estudios mencionados con resultados positivos tratan sobre el remojo de semillas con  $\text{KNO}_3$  en un determinado tiempo, a diferencia del presente estudio que estuvo todo el tiempo en el sustrato, lo cual puede generar otros efectos adversos o positivos sobre el desarrollo de plántulas que será explicado más adelante.

En el caso del tratamiento con ácido sulfúrico, se debe resaltar que con éste se obtuvo la menor media entre todos los tratamientos en estudio (Tabla 7), y la mayoría de las semillas tratadas con ácido sulfúrico presentaron hongos a su alrededor. Este resultado se debió a la capacidad que tiene este ácido para adelgazar la cubierta de la semilla para mejorar el intercambio de gases con el embrión (Sánchez *et al.*, 2017); sin embargo, cuando la concentración y el tiempo de remojo no son adecuados como aparentemente ocurrió en este caso, el ácido destruye la testa permitiendo la entrada de patógenos ocasionando la muerte de las semillas.

Al respecto Gómez (2020), señala que la aplicación de ácido sulfúrico al 25 % durante 30 minutos, en semillas de espárrago de la variedad Atlas F1, generó la germinación de las semillas, pero provocó la muerte en varias de ellas. En el presente estudio la concentración del ácido sulfúrico fue de 75 %, la duración del remojo fue de apenas 10 segundos y la variedad de espárrago UC-157 F2 Hyb. Así también, en semillas de coralillo asiático, regaliz americano o rosario de guisantes (*Abrus precatorius* L.), cuya dormancia es elevada, al aplicarles ácido sulfúrico como tratamiento a una concentración de 80 % durante 5 minutos, promovió que siete tipos de hongos infectaran las semillas (Nikhade, 2017). Chikumba *et al.* (2006), mencionan que este tratamiento suele tener efectos negativos como la muerte de cariósides.

Otros estudios reportan que en semillas que tienen elevada dormancia como *Atraphaxis spinosa* y semillas de espino de cristo (*Euphorbia milii*), especies arbustivas africanas, el ácido sulfúrico resulta la mejor opción como tratamiento de pregerminación (Temel *et al.*, 2023; Tilki y Kebesoglu, 2009). De manera similar, Zambrano (2018) señaló que la inmersión con ácido sulfúrico al 98 % logró romper la dormancia impuesta por la testa en semillas de kudzu, obteniendo mayor porcentaje de germinación fisiológica y plántulas normales. Así pues, un estudio en el Congo reveló que el ácido sulfúrico es el mejor tratamiento cuando se trata de dormancia tegumentaria como sucede en semillas de un árbol forestal (*Erythrophleum suaveolens*) (Douh *et al.*, 2022). Por otra parte, Merola y Saulo (2012) señalan que el ácido sulfúrico es buen tratamiento para romper la dormancia en especies forrajeras tropicales obteniendo altos porcentajes de germinación.

**Tabla 7: Germinación fisiológica de semillas (%)**

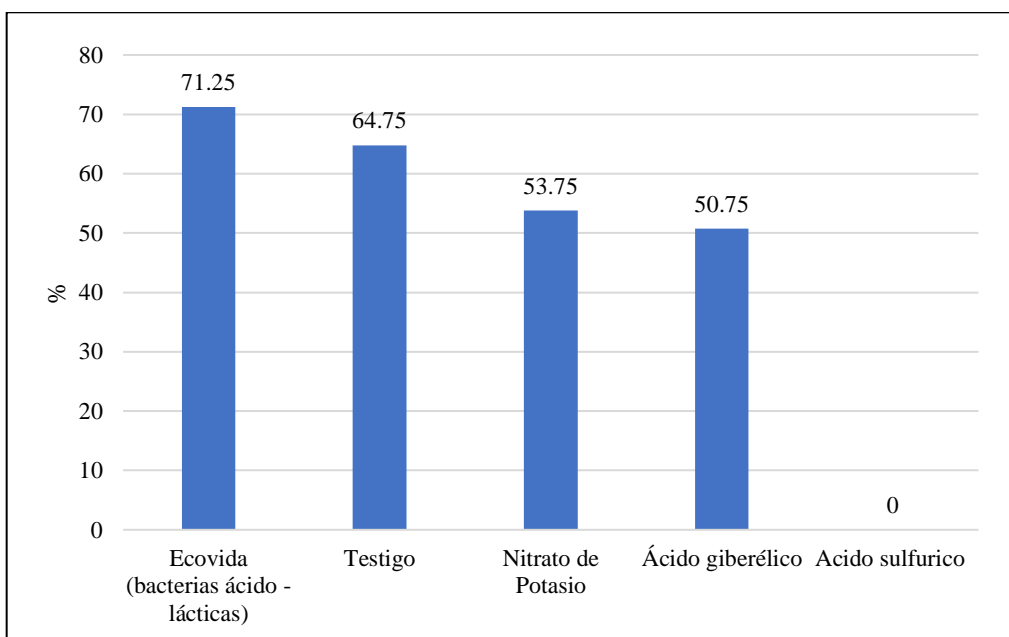
Tratamiento	Promedio			
Ecovida (Bacteria láctica)	81.75	A		
Nitrato de potasio	81.25	A		
Testigo	73.25		B	
Ácido giberélico	60.00			C
Ácido sulfúrico	19.00			D
CV (%)	3.57			
DMS	4.92			
R <sup>2</sup>	0.99			

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes por la prueba Tuckey (p=0.05)

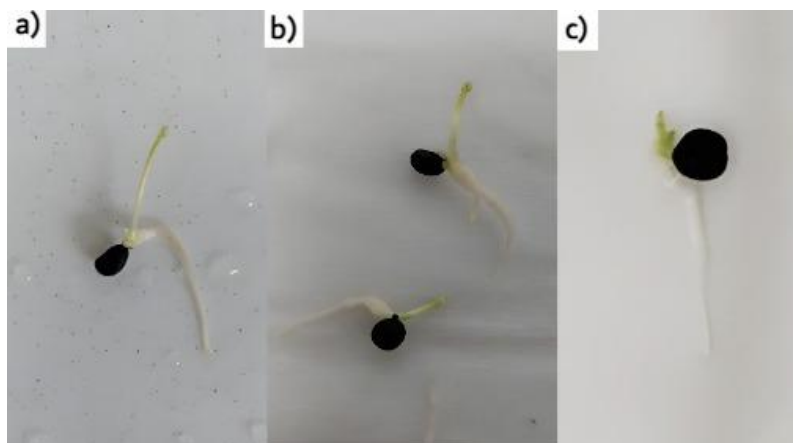
#### 4.2. PORCENTAJE DE PLÁNTULAS NORMALES DE TAMAÑO REDUCIDO

De acuerdo con el conteo realizado al décimo día, los mayores promedios de plántulas normales de tamaño reducido fueron alcanzados por el testigo y el tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas), pero este último presentó mayor promedio (Figura 7), cuyas plántulas se mostraron más uniformes y desarrolladas que las del testigo u otros tratamientos (Figura 8). El tratamiento con ácido sulfúrico fue retirado del estudio, ya que no generó ninguna plántula normal, por el contrario, las semillas murieron por la presencia de hongos.

Se resalta que, en el décimo día del estudio, los porcentajes de plántulas normales de tamaño reducido empiezan a disminuir en todos los tratamientos. Sin embargo, en el caso del ácido giberélico y nitrato de potasio presentan los menores porcentajes.



**Figura 7: Porcentaje promedio de plántulas normales con tamaño reducido**



**Figura 8: Plántulas normales de tamaño reducido**

*Nota.* a) Plántula normal del tratamiento con Ecovida; b) Plántulas normales del testigo; y c) Plántula normal del tratamiento con nitrato de potasio.

#### 4.3. PLÁNTULAS NORMALES

En el día 28 de evaluación, según el análisis de varianza a un nivel de significancia del 0.05 se evidenció que existen diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos sobre el número de plántulas normales, con un coeficiente de variabilidad de 6.26 % (Tabla 8).

**Tabla 8: Análisis de varianza para el porcentaje de plántulas normales**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fcal	Pr > F
Tratamientos	3	7962.00	2654.00	219.6413793	< 0.0001
Error	12	145.00	12.08		
Total	15	8107.00	540.47		
CV	6.26				

Para completar el estudio se realizó una prueba de comparación múltiple de Dunnet a un nivel de significancia del 0.05, en el cual se tomó al testigo para compararlo con los demás tratamientos y se evidenció que no existe diferencia significativa entre el testigo y el tratamiento de Ecovida (bacterias ácido-lácticas) (Tabla 9). Esto significa que ambos tienen igual rendimiento respecto al número de plántulas normales.

**Tabla 9: Prueba de Dunnet del porcentaje de plántulas normales a los 28 días**

Tratamiento	Promedio	
Testigo	75.50	A
Ecovida (bacterias ácido-lácticas)	80.00	A
Nitrato de potasio	33.25	B
Ácido giberélico	33.25	C

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes por la prueba de Dunnet ( $p=0.05$ )

En la Tabla 10 se puede observar que no existen diferencias significativas entre el testigo y el Ecovida (bacterias ácido-lácticas), pues ambos presentaron los mayores promedios de plántulas normales con un buen desarrollo de sus partes esenciales (Figura 9). Sin embargo, la mayor media se obtuvo con el tratamiento de Ecovida (bacterias ácido-lácticas) y presentó más uniformidad de crecimiento en todas las etapas de evaluación a diferencia de los demás tratamientos. Este resultado es compatible con los observados por Soto (2015), quien señala que al aplicar varios fertilizantes biológicos (Ecovida, Forteprotec, Agrobiol, Aminovigor) en el momento de la siembra en campo de semillas de arveja (*Pisum sativum* L.), el Ecovida (bacterias ácido-lácticas) dio mayor porcentaje de germinación que los demás tratamientos y mejoró el rendimiento del cultivo.

De forma similar Lutz *et al.* (2012), informan que al inocular semillas de tomate con bacterias ácido-lácticas (BAL) alcanzan una tasa de germinación de 57 %, a diferencia de las no inoculadas que solo germinaron en 34 %; y un segundo estudio en semillas de pepino que fueron inoculadas con *Pythium* (hongo dañino) y BAL, la planta aumentó su peso fresco a diferencia de las no tratadas con BAL, demostrando que estas bacterias tienen la capacidad de inhibir este patógeno. Esto explica por qué la cantidad de plántulas normales con infección secundaria que se obtuvo con Ecovida (bacterias ácido-lácticas) en el presente estudio, fueron casi nulas, ya que las BAL producen ácido láctico que tiene la propiedad de eliminar y controlar la difusión de microorganismos como el *Fusarium*, tal como señala la Organización de Investigación EM Japón (EMRO) (1994).

Un estudio de tratamiento de semillas de tomate con cepas de BAL, no solo logró suprimir al patógeno de marchitamiento (*Ralstonia solanaceum*) sino también, mejoró la calidad de



germinación y el vigor de plántulas (Murthy et al., 2012). Asimismo, otras investigaciones sobre tratamientos de semillas de tomate con las BAL revelaron que pueden inhibir hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum* y *Ralstonia solanacearum*) y lograr mayor desarrollo en la planta (Abdel et al., 2014; Vargas, 2020). Esta estimulación de crecimiento vegetal se debe a que varias especies de BAL tienen la capacidad de producir ácido indol-3-acético (IAA) (Mohammad et al., 2022). Esta fitohormona está relacionada con el alargamiento y división celular e interviene en la formación de la raíz y el xilema (Vega et al., 2016).

Por otra parte, semillas de papaya que fueron tratadas con un bioformulado que previamente fue inoculado con bacterias (*Pseudomona protegens* y *Pseudomona putida*), dieron como resultado un aumento de pelos radiculares y un porcentaje de germinación de 80 % (Macías-Holguín et al., 2023). Así también, semillas de maíz que fueron embebidas en una suspensión de bacterias endófitas (*Mixta theicola*) durante 1 hora, mostraron un efecto positivo estadísticamente significativo en el porcentaje de germinación, elongación de las raíces, vigor de las plántulas y biomasa fresca y seca (Hagaggi y Mohamed, 2020).

Por el contrario, semillas de maíz que fueron remojadas con bacterias del género *Bacillus* spp no tuvieron diferencia significativa en el porcentaje de germinación con las no inoculadas, pero si las semillas tratadas presentaron mayor crecimiento de plantas y acumulación de biomasa (Lwin et al., 2012). Otra técnica de inoculación es el recubrimiento de semillas realizado por Srivastava et al. (2010) en semillas de tomate, estas fueron recubiertas por 2 bioagentes (*Trichoderma harzianum* y *Pseudomonas fluorescens*), resultando mayor germinación y disminución de la incidencia de *Fusarium* en campo a diferencia de las no inoculadas. Cabe señalar que la ISTA no menciona tratamientos con microorganismos en semillas, por ello, la interacción de las bacterias ácido-lácticas en relación con la dormancia es objeto de investigación.

Las semillas testigo (aquellas que no recibieron tratamiento alguno), al igual que las tratadas con Ecovida (bacterias ácido-lácticas), también tuvieron buen desarrollo de las plántulas con muy pocas infecciones secundarias. Esta condición se debe, a que al ser semillas importadas fueron previamente tratadas con un fungicida de contacto, ya que esto es un requisito para que pueda ingresar al país (Sierra seed, 2023). Por otra parte, no se mostró diferencias significativas entre el porcentaje de germinación del testigo (75.5 %) y el Ecovida (80.0 %)

(Tabla 10). Esto fue observado por Nguyen y Tram (2021), quienes indican que al remojar semillas de maní en un caldo de cultivo de col con 3 cepas del género *Lactobacillus* logró mayor bioestimulación de germinación, crecimiento de las plántulas y mayor rendimiento de frutos en comparación con las semillas tratadas con un fungicida químico y con las no tratadas. Pues bien, esto refleja que los productos a base de microorganismos en un futuro pueden reemplazar a los fungicidas químicos.

**Tabla 10: Plántulas normales**

Tratamiento	Promedio		
Ecovida (bacterias lácticas)	80.00	A	
Testigo	75.50	A	
Ácido giberélico	33.25		B
Nitrato de potasio	33.25		B
CV (%)	6,26		
DMS	7.29		
R2	0.98		

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes por la prueba Tuckey (p=0.05)

En cuanto al nitrato de potasio ( $KNO_3$ ) se puede indicar que, al pasar los días, causó daño en el desarrollo, tamaño de las plántulas (Figura 10) y aumentó el número de raíces atrofiadas (Figura 11b), esto tuvo como consecuencia menor cantidad de plántulas normales (Tabla 10). Este resultado concuerda con las observaciones de Marín *et al.* (2007) quienes reportaron que la aplicación de  $KNO_3$  inhibió la germinación en semillas de cebolla, dando un porcentaje de germinación menor que el testigo y mayor porcentaje de plántulas anormales.

Goudey *et al.* (1988), afirmaron que al aplicar concentraciones de 0.3 y 4.4 nmol de nitrato en semillas de mostaza silvestre (*Sinapsis arvensis*), se obtuvo mayor germinación, pero al aumentar hasta 5 nmol de nitrato, ésta se inhibió. Asimismo, semillas de dos cultivares de trigo que fueron tratadas con  $KNO_3$ , demostraron que a una concentración del 1 % se obtiene mayor porcentaje de germinación, pero al incrementar esta concentración este porcentaje disminuyó para ambos cultivares (Shafiei y Ghobadi, 2012). De manera similar, la inmersión de semillas de kudzu en  $KNO_3$  al 0.2 % dio un porcentaje de plántulas normales menor que el testigo (Zambrano, 2018). Incluso la inmersión de diferentes cultivares de semillas de

cebolla en  $\text{KNO}_3$  (50.50 mg/L) afectó negativamente el vigor de las plántulas de todos los cultivares (Herrera *et al.*, 2011). Además, en arroz, Ruttanaruangboworn *et al.* (2012) descubrieron que al incrementar la concentración de  $\text{KNO}_3$  se retarda la imbibición de las semillas.

Entonces cuando la concentración de  $\text{KNO}_3$  se excede en una especie genera efectos negativos como se ha visto en el presente estudio y en otros casos el retraso de la germinación. Sin embargo, la aplicación excesiva de  $\text{KNO}_3$  en semillas de *Delphinium denudatum*, planta medicinal de Asia, resulta efectiva para su germinación (Prakash *et al.*, 2023). Así también, el tratamiento de semillas de espárrago de la variedad Atlas F1 con  $\text{KNO}_3$  en distintas concentraciones (0.1, 0.2 y 0.4 %) no generó ningún efecto negativo en las plántulas (Gómez, 2020). Esto sucede debido a que entre cultivares y variedades de la misma especie el nitrato de potasio no siempre responde de la misma forma, así pues, la aplicación de 0.2 % de  $\text{KNO}_3$  resulta efectiva para la germinación de 3 cultivares de ají, sin embargo, uno de ellos tuvo mayor porcentaje de germinación que los otros cultivares (Andrade y Laurentin, 2015).

Por otra parte, el nitrato de potasio contribuye a mitigar la dormancia y el incremento de porcentaje de germinación en varias especies, por ejemplo, Gandini (2018) recomienda el uso de nitrato de potasio a una concentración de 25 milimol (mM) como tratamiento de pregerminación en semillas de tomate. Choudhury y Bordolui (2022) reportaron buenos resultados con el uso del  $\text{KNO}_3$  en semillas de garbanzo a una concentración de 100 ppm durante 8 horas. Sin embargo, Tapfumaneyi *et al.* (2023), señalaron que en semillas de Amarantho y *Cleome gynandra*, que tienen dormancia física y fisiológica, el nitrato de potasio a distintas concentraciones (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 %), no dio resultados positivos para romper dicha dormancia.

Queda en evidencia que este tratamiento no siempre será efectivo para todas las especies y en otros casos no será necesario, ya que va a depender de la procedencia de los lotes de semilla, tal como señala el estudio realizado por Derkx y Karssen (1993), quienes revelaron que las semillas de *Arabidopsis* que fueron cosechadas en un período de baja sensibilidad a la luz tienen menos nitrógeno endógeno que las semillas cosechadas en el período de alta sensibilidad a la luz. Años más tarde se reveló que la acumulación de nitrógeno en la semilla

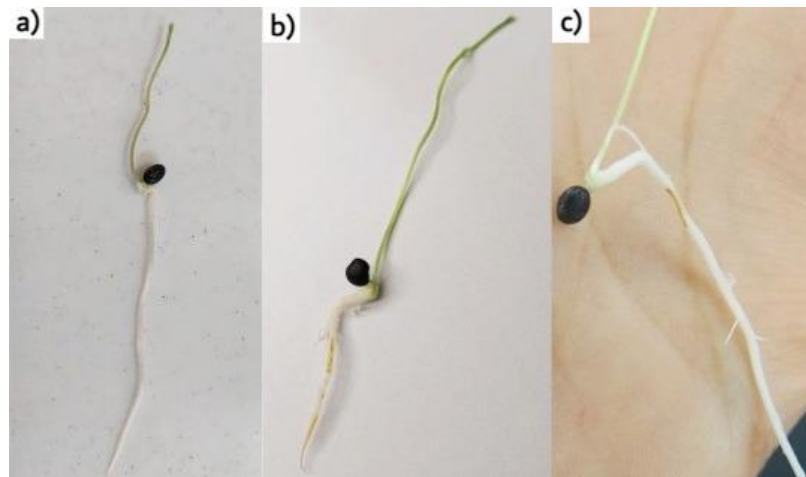
durante su formación disminuye la dormancia y también se relaciona con menor necesidad de ácido giberélico para lograr la germinación (Alboresi et al., 2005).

El tratamiento con ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), a lo largo de los días, también presentó efectos negativos sobre la germinación con un porcentaje inferior de plántulas normales en comparación con el testigo (Tabla 10). Si bien este ácido juega un papel importante en la aceleración y mejora de la germinación de semillas, la concentración de este ácido tiene un límite y si se excede presenta efectos negativos sobre el rejuvenecimiento de la semilla (Vafadust *et al.*, 2022). Esto fue observado por Campos *et al.* (2014) quienes al realizar tratamientos de semillas de quina (*Cinchona pubescens*) con 0.1 %, 0.2 % y 0.3 % de ácido giberélico obtuvieron 33.34 %, 0 % y 0 %, respectivamente, de germinación; resultados por debajo del testigo, por ello, recomiendan mejor el tratamiento con nitrato de potasio para este género. Así también, para superar la dormancia en semillas de *Andropogon gayanus*, se empleó varias dosis de ácido giberélico demostrando que la más adecuada es 225 mg/L de giberelina, ya que impulsó la máxima germinación, sin embargo, cuando se incrementó esta dosis a 300 mg/L la emergencia de plántulas disminuyó (Feitosa *et al.*, 2015).

Según lo anterior, la concentración empleada de AG<sub>3</sub>, bajo las condiciones de este estudio, no fue la más adecuada para las semillas de espárrago. Esto es explicado por Astocondor (2020) quien indica que la aplicación de AG<sub>3</sub> con diferentes dosis (0, 5, 7 ppm), en presencia de luz, sobre semillas de muña mostró diferencias significativas en el porcentaje de plántulas normales, siendo el mayor porcentaje a 0 ppm. Mientras que, en oscuridad, cuando se aumentó la dosis de AG<sub>3</sub> a 7 ppm, el porcentaje de germinación también se incrementó. Por tanto, las giberelinas están moduladas por factores externos como la luz a través de los fitocromos, por ejemplo, en las arvejas se ha demostrado que la luz azul incrementa la giberelina inactiva afectando su crecimiento y en otras especies la luz roja incrementa la síntesis de giberelina dando como resultado la germinación (Iglesias y Talón, 2013).

Apoyando lo anterior un estudio en semillas de *Minthostachys mollis* demostró que diferentes dosis de ácido giberélico no tienen efecto sobre la germinación, pero la luz roja dio resultados positivos (Suárez *et al.*, 2011). Además, en muchas semillas las giberelinas reemplazan los requerimientos de luz o frío que necesitan para germinar, por ello, no siempre es necesario su aplicación (Iglesias y Talón, 2013). Incluso, dentro de la misma especie, la

dosis de giberelina puede variar, tal como señala el estudio realizado en cinco genotipos de semillas de okra, que al ser remojadas con giberelina al 0.02 %, uno de los genotipos denominado Clemson mostró mayor germinación que los demás (Mekuria, 2023).



**Figura 9: Plántulas normales de espárrago a los 28 días después de la siembra**

*Nota.* a) Plántula normal completamente sana, b) Plántula normal con infección secundaria que no impide su desarrollo, c) Plántula normal con una pequeña mancha necrótica producida por algún patógeno.



**Figura 10: Plántulas normales tratadas con nitrato de potasio**

*Nota.* Se observa un reducido tamaño de las plántulas normales.

#### 4.4. PLÁNTULAS ANORMALES

De acuerdo con el análisis de varianza a un nivel de significancia del 0.05 se evidenció que existe diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos en el número de plántulas anormales, con un coeficiente de variabilidad de 6.17 % (Tabla 11).

**Tabla 11: Análisis de varianza para el porcentaje de plántulas anormales a los 28 después de la siembra**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fcal	Pr > F
Tratamientos	3	8095.00	2698.33	530.8196721	< 0.0001
Error	12	61.00	5.08		
Total	15	8156.00	543.73		
CV	6.17				

En la Tabla 12 se puede observar que no hay diferencia significativa entre el testigo y el tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas), siendo el Ecovida quien presentó menor porcentaje de plántulas anormales. Este resultado se debe a los efectos positivos del Ecovida sobre las plántulas, explicados anteriormente. En cambio, los tratamientos con ácido giberélico y nitrato de potasio presentaron mayores medias de plántulas anormales, sin diferencia significativa entre ambos, debido a los efectos negativos que provocó la concentración para las semillas de espárrago explicada anteriormente. Las anomalías que se encontraron en las plántulas del tratamiento con Ecovida y el testigo son doble raíz, raíces atrofiadas y mazuda, entre otras, como se muestran en la Figura 12. En cuanto a las anomalías de los tratamientos con ácido giberélico y nitrato de potasio, la mayoría presentaron raíces atrofiadas, constreñidas y decaídas como resultado de una infección primaria entre otras anomalías (Figura 11).

**Tabla 12: Comparación de medias de plántulas anormales**

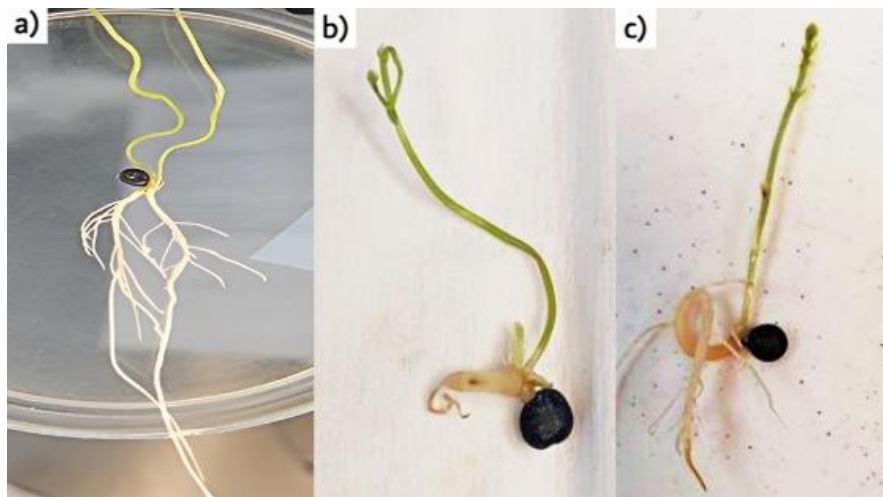
Tratamiento	Promedio	
Ecovida (bacterias ácido- lácticas)	12.8	A
Testigo	15.5	A
Ácido giberélico	60.8	B
Nitrato de potasio	57.2	B
CV (%)	6,.17	
DMS	4.74	
R2	0.99	

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes por la prueba Tuckey (p=0.05)



**Figura 11: Plántulas anormales de los tratamientos ácido giberélico y nitrato de potasio**

*Nota.* Plántulas anormales: a) Plántula anormal con geotropismo negativo. b) Presenta raíces primarias atrofiadas y podridas. c) Plántula anormal con doble raíz y atrofiadas.



**Figura 12: Plántulas anormales del testigo y del tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas)**

*Nota.* Plántulas anormales: a) Plántula anormal con doble raíz; b) Plántula anormal con raíz atrofiada y mazuda; c) Plántula anormal con raíz formando lazo.

#### 4.5. SEMILLAS NO GERMINADAS

De acuerdo con el análisis de varianza a un nivel de significancia del 0.05 se evidenció que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, en porcentaje de semillas no germinadas, con un coeficiente de variabilidad de 32.48 % (Tabla 13).

En este estudio, las semillas no germinadas se dividen en tres tipos: semillas frescas, semillas duras y semillas muertas.

**Tabla 13: Análisis de varianza para el porcentaje de semillas no germinadas**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fcal	Pr > F
Tratamientos	3	31.19	10.40	1.564388715	0.249
Error	12	79.75	6.65		
Total	15	110.94	7.40		
CV	32.48				

En la Tabla 14 se puede observar que, para las semillas frescas no se encontró diferencias significativas entre todos los tratamientos, y los porcentajes fueron menores a 5 %. Según la ISTA (2022), cuando este porcentaje supera el 5 % significa que está relacionado con dormancia fisiológica y para ello es necesario hacer la prueba de viabilidad, ya que, si se demuestra que no son viables, pertenecen a la categoría de semillas muertas. En este caso, no se evidencia dormancia fisiológica. Sin embargo, estos resultados contrastan con las observaciones de Valdivia (2015), quien tuvo como resultado 17 % de semillas frescas de espárrago del cultivar UC-157 F1.

En cuanto a semillas duras no se encontró diferencias significativas entre tratamientos, pero el testigo presentó mayor porcentaje (Tabla 14). Esto podría deberse a que los tratamientos de alguna forma ayudaron a ablandar la testa permitiendo la entrada del agua y el intercambio de gases, a diferencia del testigo. Cabe señalar que la dureza de la semilla está relacionada con la dormancia física, esto hace que la testa no permita el ingreso de agua hasta el embrión permitiendo su germinación, tal como señala (Matilla, 2013).

En el presente estudio los porcentajes de semillas duras son bajos para todos los tratamientos; sin embargo, el testigo presentó un porcentaje ligeramente mayor a los demás tratamientos, por lo que se considera que podría existir una ligera dormancia física en las semillas de espárrago estudiadas. Complementado la idea anterior el espárrago pertenece al orden Asparagales, que se caracterizan por tener en la cubierta seminal la presencia de fitomelanina, esta es una sustancia que le confiere la coloración negra y la dureza de la testa (Campbell *et al.*, 2016), lo cual podría estar relacionada con la dormancia. Por otra parte, la



ISTA (2022) indica que generalmente la dureza de las semillas sucede en Fabáceas y no menciona a partir de qué porcentaje se debe considerar hacer la prueba de viabilidad para esta categoría de semillas no germinadas.

**Tabla 14: Análisis de semillas no germinadas**

Tratamiento	Semillas Frescas	Semillas Duras	Semillas Muertas
Ecovida (bacterias lácticas)	2.50 A	4.75 A	0.00 A
Testigo	3.25 A	5.75 A	0.00 A
Ácido giberélico	1.50 A	4.00 A	0.50 A
Nitrato de potasio	3.50 A	3.75 A	2.25 A
CV (%)	71.05	35.93	166.64
DMS	4.01	3.44	2.41
R2	-0.02	0.04	0.33

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes por la prueba Tuckey ( $p=0.05$ )

#### 4.6. ENSAYO DE VIABILIDAD

Los resultados del presente ensayo están basados en la evaluación del patrón de tinción a nivel de endospermo en cada semilla, según el protocolo de análisis de vigor usando sales de tetrazolio (ISTA, 2003; Valdivia, 2015). Por tanto, se consideró como semillas viables aquellas cuyo embrión y endospermo se tiñeron de color rojo, de forma uniforme o con muy pocas zonas sin teñir (Figura 13). Por consiguiente, las semillas no viables son aquellas que presentan embriones teñidos y endospermo sin teñir o viceversa. También se consideran semillas no viables a aquellas cuyo embrión presenta un color rosado tenue y aquellas que no sufrieron el efecto de la tinción (Figura 1).

En la Tabla 15 se observa que el porcentaje promedio de viabilidad de las semillas de espárrago, mediante la prueba del Tetrazolio, es de 79.0 %. Comparando este resultado con el 75.5 % de germinación del testigo, obtenido en el ensayo de germinación (Tabla 10), se puede deducir que no existirían evidencias que demuestran que haya estrictamente una dormancia. Esto también se ajusta al bajo porcentaje de semillas frescas que se mostró anteriormente. No obstante, en el estudio realizado por Valdivia (2015) en semillas de espárrago del cultivar UC-157 F1, el porcentaje de germinación (45 %) fue mucho menor que el de viabilidad (60 %), evidenciando que existe algún tipo de dormancia.

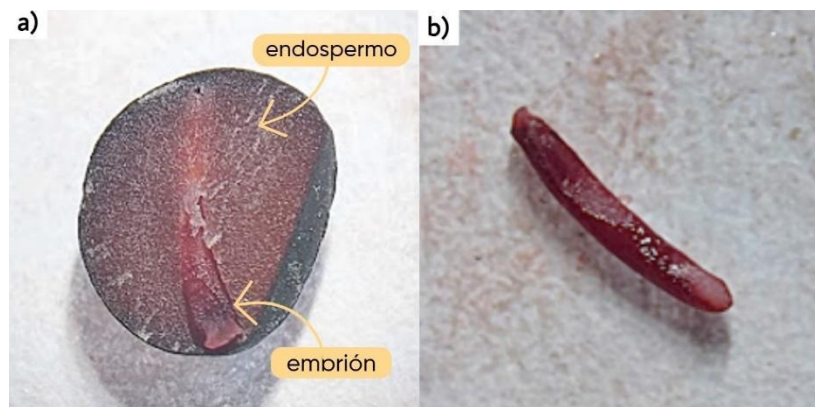
De manera similar, Gómez (2020) señaló que en la variedad Atlas F1 de espárrago existe dormancia física, ya que los tratamientos a bajas concentraciones con  $\text{KNO}_3$  y  $\text{AG}_3$  dieron porcentajes de germinación significativamente mayores que el testigo. Estas diferencias se deben a que la capacidad germinativa de la semilla depende de los factores a los que estuvo expuesta durante su formación, siendo la temperatura la que predomina sobre la germinación de la semilla y la luz sobre los rasgos de la planta (He *et al.*, 2014). Por ejemplo, las semillas de lechuga del cv 'Tango' dieron mayor germinación cuando la planta madre estuvo expuesta a alta temperatura, que cuando estuvo a baja temperatura (Contreras *et al.*, 2009).

Así también, Huang *et al.* (2014) señaló que las plantas madre de 2 ecotipos de *Arabidopsis* que estuvieron expuestas a ambientes cálidos, sus semillas presentaron mayor porcentaje de germinación que cuando fueron sometidas a bajas temperaturas; y, cuando los 2 ecotipos fueron sometidos a un mismo ambiente y luego a diferente ambiente, ambos casos presentan distinto grado de dormancia en sus semillas. De hecho, el fotoperiodo al que está expuesta la planta madre también influye en la dormancia de sus semillas y el otro factor es el suelo que influye en la disponibilidad de nutrientes para la planta madre (Bewley *et al.*, 2013).

Por otra parte, cuando las semillas están fuera de la planta madre, a medida que pasa el tiempo pierden viabilidad, por ello un factor clave es un almacenamiento adecuado, ya que si esto se hace de forma incorrecta causa problemas en el crecimiento de la semilla y en otros casos su muerte (Lizama 2012). Añadiendo a todo lo anterior es muy probable que la semilla utilizada en el presente estudio haya ido perdiendo su viabilidad durante el almacenamiento (la semilla fue envasada en 2021 y el estudio se realizó en 2022).

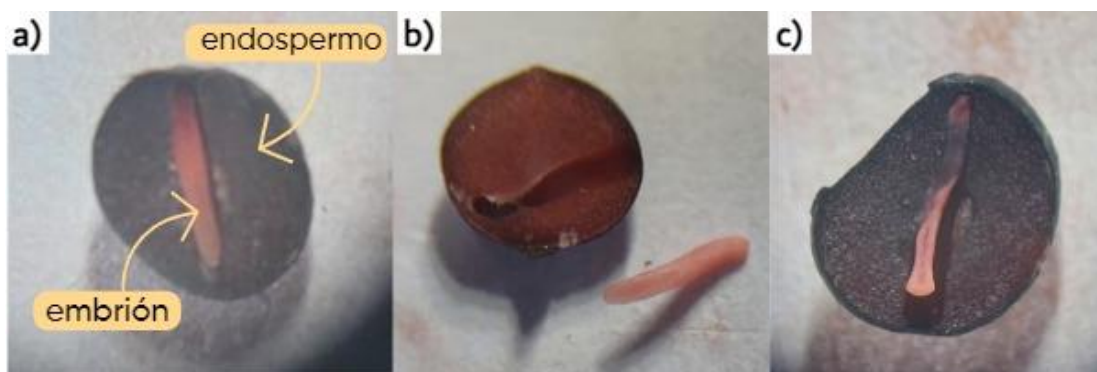
Por tanto, queda en evidencia que el porcentaje de germinación de una semilla depende del manejo que haya recibido la planta madre y el cuidado después de su cosecha, además el grado de la dormancia que pueda presentar está sujeto a varios factores por lo que es muy variable dentro de una misma especie y mucho más entre especies. En el presente estudio, a pesar de que no se mostró estrictamente una dormancia, se ha comprobado que el testigo no logró superar el 80 % y esto podría ser debido al genotipo de la semilla, ya que al pertenecer a la segunda generación (F2) de un híbrido cabe la posibilidad de un incremento en la variabilidad genética, obteniendo semillas de menor calidad y más susceptibles a enfermedades, por ello no siempre es la mejor opción usar F2 (Suárez, 2010).

Esto fue observado por Niño (2009) en semillas de trigo donde el promedio de germinación de varias cruzas de híbridos de la F2 fue de 88 % y del F1 fue de 93.8 %. Así también, en semillas de maíz amarillo duro el rendimiento del F1 fue superior al F2 (Torres, 2017) y en semillas de *Sorghum bicolor* Hernández y Moreno (2014) no recomiendan la generación F2 porque la relación beneficio/costo es negativo. Por otra parte, según el Reglamento General de Semillas indica que el 80 % de germinación del espárrago es el mínimo para su comercialización (SENASA, 2008).



**Figura 13: Semillas viables**

*Nota.* a) Semilla con embrión y endospermo intensamente teñidos de color rojo. b) Se observa el embrión totalmente teñido de color rojo.



**Figura 14: Semillas no viables**

*Nota.* a) Endospermo no teñido y el embrión presenta color rosado tenue; b) Endospermo teñido con el embrión color rosado tenue; c) Embrión de consistencia flácida y color rosado tenue; el endospermo no se encuentra teñido.

**Tabla 15: Porcentaje de semillas viables y no viables mediante la prueba de Tetrazolio**

<b>Repeticiones</b>	<b>Semillas Viables</b>	<b>Semillas No viables</b>
R1	77	23
R2	81	19
R3	79	21
R4	79	21
Promedio	79	21

*Nota.* Cada repetición constó de 100 semillas.

## V. CONCLUSIONES

- La influencia de los tratamientos propuestos para superar la dormición en semillas de espárrago no fue determinante debido a que no mostró alta diferencia significativa el porcentaje de germinación del Ecovida frente al testigo.
- El tratamiento con Ecovida (bacterias ácido-lácticas) favoreció una mayor tasa y uniformidad en la germinación de las semillas en todas las etapas de evaluación sin ningún efecto negativo para las semillas de espárrago. El tratamiento con ácido sulfúrico no fue adecuado para estimular la germinación, ya que provocó la muerte de las semillas. Por otro lado, al pasar los días, la concentración y forma de aplicación (sobre el sustrato) del ácido giberélico y nitrato de potasio generaron efectos negativos sobre el desarrollo de las plántulas en este cultivar.
- Los valores similares de porcentaje de viabilidad y germinación de semillas del tratamiento testigo, indican que la presencia de semillas duras puede ser un indicador de una leve dormancia física por la presencia de fitomelanina en la testa de las semillas de espárrago.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Continuar las investigaciones sobre los efectos positivos en la germinación de semillas de espárrago con el Ecovida (bacterias ácido-lácticas) en condiciones de vivero y campo.
- No se recomienda utilizar el ácido sulfúrico como tratamiento para estimular la germinación en semillas de espárrago.
- Investigar otras concentraciones y formas de aplicación de ácido giberélico y nitrato de potasio, con la finalidad de lograr una dosis óptima para estimular la germinación en semillas de espárrago de cv UC-157 F2 Hyb.
- Continuar investigando sobre el grado y tipo de dormancia que puedan tener los diferentes cultivares y variedades de semillas de espárrago, ya que los estudios no son concluyentes.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aziz, S., Moustafa, Y. & Hamed, H. (2014). Lactic Acid Bacteria in the Green Biocontrol against some Phytopathogenic Fungi: Treatment of Tomato Seeds. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 4(12), 1-9.
- Alboresí, A., Gestin, C., Leydecker, M., Bedu, M., Meyer, C. & Truong, H.N. (2005). Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*. *Planta, Célula y Medio Ambiente* 28,(4) 500–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01292.x>
- Alcántara Cortés, J., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, D. y Sánchez Mora, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA,17* (32): 109-129. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Amor-Morales, A., Muñoz, L., Molina, M. y Delgado, L. (2022). *Asparagus officinalis* L. En Tardío, J., Pardo de Santayana, M., Lázaro, L., Aceituno, L. y Molina, M. *Inventario Español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad agrícola*. Vol. 2. 314-324. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. [https://www.mapa.gob.es/images/es/tardio\\_et al2022\\_lectbavol2\\_tcm30-640207.pdf](https://www.mapa.gob.es/images/es/tardio_et al2022_lectbavol2_tcm30-640207.pdf)
- Andrade, S. y Laurentin, H. (2015). Efecto del nitrato de potasio sobre la germinación de semillas de tres cultivares de ají dulce (*Capsicum chinense jacq.*). *Unellez de Ciencia y Tecnología*. 33, 25-29.

- Astocondor Espinoza, L.F. (2020). *Influencia de la luz y del ácido giberélico en la germinación de semillas de muña (Minthostachys spicata (Benth.) Epling)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/4351>
- Balam Agriculture. (2023). *Nitrato de potasio*. Balam Agriculture. Recuperado de <https://balam.es/nitrato-de-potasio-que-es-y-para-que-sirve/#>
- Barbon, R., Preil, W., Capote, A. y Jiménez, E. (2017). Efecto del CO<sub>2</sub> en la germinación de embriones somáticos de *Coffea arabica* L. cv. 'Caturra rojo' y *Clematis tangutica* K. *Bioteología Vegetal* 17(2), 105–112. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/hevila/Bioteologiavegetal/2017/vol17/no2/5.pdf>
- Baskin, J.M. y Baskin, C.C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bennett, A.J., Mead, A. & Whipps, J. (2009). Performance of carrot and onion seed primed with beneficial microorganisms in glasshouse and field trials. *Biological Control*, 51(3), 417-426. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.08.001>.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. & Nonogaki, H. (2013). Dormancy and the Control of Germination. En: *Seed*. Springer, Nueva York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4_6)
- Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J. & Judd, W.S. (2016). *Plant systematics: a phylogenetic approach* (4th ed.). Sinauer Associates, Inc. [https://fama.us.es/discovery/fulldisplay/alma991012760029704987/34CBUA\\_US:VU1](https://fama.us.es/discovery/fulldisplay/alma991012760029704987/34CBUA_US:VU1)
- Campos-Ruíz, J., Cerna-Rebaza de Chico, L. y Chico-Ruíz, J. (2014). Efecto del ácido giberélico, nitrato de potasio y agua de coco en la germinación de semillas de quina,



*Cinchona pubescens*. *REBIOLEST* 2(1), 1-12.  
<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/637>

Cardoso, V. (2009). Conceito e classificação da dormência em sementes. *Oecologia Brasiliensis* 13(4), 619-631. [doi:10.4257/oeco.2009.1304.06](https://doi.org/10.4257/oeco.2009.1304.06)

Carrillo-Barral, N., Rodríguez, G. & Matilla, A. (2020). Delay of Germination-1 (DOG1): A Key to Understanding Seed Dormancy *Plantas (Basilea)*. 9(4), 1-2. [doi:10.3390/plants9040480](https://doi.org/10.3390/plants9040480)

Courtis Azul, C. (2013). Guía de Estudio de Germinación de semillas. Cátedra de Fisiología Vegetal. FACENA Departamento: Biología. Área: Botánica. UNNE. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/GuiadeestudioGerminacion.pdf>

Contreras, S., Bennett, M.A. & Tay, D. (2009). Temperature during seed development affects weight, germinability and storability of lettuce seeds. *Seed Science Technology* 37(2), 398–412. <https://doi.org/10.15258/sst.2009.37.2.13>

Chahtane, H., Kim, W. & Lopez-Molina, L. (2017). Primary seed dormancy: A temporally multilayered riddle waiting to be unlocked, *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 857–869. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw377>

Chikumba, N., Mapiye, C. & Poshiwa, X. (2006). Breaking seed coat dormancy in *Macrotylomadaltonii*. *The Rangeland Journal* 28(2), 179-182. <https://www.publish.csiro.au/rj/rj06012>

Choudhury, A. & Bordolui, S. (2022). Inducement of Seed Priming with Potassium Nitrate on quality Performance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Biological Forum –An International Journal* 14(4), 779-783. [https://www.researchgate.net/publication/365710084\\_Inducement\\_of\\_Seed\\_Priming\\_with\\_Potassium\\_Nitrate\\_on\\_quality\\_Performance\\_of\\_Chickpea\\_Cicer\\_arietinum\\_L](https://www.researchgate.net/publication/365710084_Inducement_of_Seed_Priming_with_Potassium_Nitrate_on_quality_Performance_of_Chickpea_Cicer_arietinum_L)

- De la Cuadra, C. (1992). *Germinación, latencia y dormición de las semillas*. Rivadeneyra.  
[https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1992\\_03.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf)
- Del Pozo, A. (1999). *Morfología y funcionamiento de la planta*. En M. González y A. Pozo. L (Eds.). *El cultivo del espárrago*. (pp. 9-25). Instituto de Investigaciones Agropecuarias Ministerio de agricultura.
- Derkx, M.P.M. & Karssen, C.M. (1993). Variability in light-, gibberellin- and nitrate requirement of *Arabidopsis thaliana* seeds due to harvest time and conditions of dry storage. *Journal of Plant Physiology*, 141(5), 574-582.  
[https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80459-1](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80459-1)
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos tropicales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas* 31 (1), 74-85 [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362010000100011#:~:text=Viabilidad%20de%20las%20semillas%3A%20es,y%20las%20condiciones%20de%20almacenamiento.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011#:~:text=Viabilidad%20de%20las%20semillas%3A%20es,y%20las%20condiciones%20de%20almacenamiento.)
- Douh, Ch., Makouanzi Ekomo, Ch.G., Kessimo, R.G. & Koubouana, F. (2022). Nursery germination trial of Tali seeds, *Erythrophleum suaveolens* (Guill. & Perr.) Brenan. *The International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(6): 2611-2620. <http://www.ifgdg.org>
- Ecocampo. (2009). *Ecovida Lactodefense*. Bio Fertilizantes Perú. Recuperado de <http://biofertilizantesperu.com/site/productos/ecovida-lactodefense/>
- Feitosa, F., Júnior, I., Marcia, A., Rodríguez. B, Damascena, N., Araújo. E., y Amaro, H. (2015). Efecto de los reguladores de giberelinas y citoquininas en la ruptura de la latencia en semillas de pasto andropogon. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 38(1), 34-40. <https://revistas.rcaap.pt/rca/issue/view/939>

Fowler, A. & Bianchetti, A. (2000). Dormência em sementes florestais. Colombo: Embrapa Florestas. 27p. (Embrapa Florestas. Documentos, 40).

Gandini, R. (2018). *Efecto de KNO<sub>3</sub> como tratamiento de semilla y fertilización nitrogenada en crecimiento vegetativo de tomate* (Tesis de pregrado). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/da00970d-69ff-41ce-ba26-7804fd4e0895/content>

Gastón de Iriarte Melgarejo, C. (2017). *Estudio de la germinación de dos especies de Teucrium protegidas en la Región de Murcia* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica de Cartagena. Repositorio digital de UPCT. <https://repositorio.upct.es/xmlui/bitstream/handle/10317/7353/tfg-gas-est.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Garcés Millas, I. (2000). Nitrato de Potasio. Antofagasta, Chile. Recuperado de <https://intranetua.uantof.cl/salitre/nitrato%20k.pdf>

Gil-Horán, R., Domínguez, R. y Pacho, J. (2008). Bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de cáscara de naranja: Procesos de separación y purificación. *Tecnología, Ciencia, Educación* 23(2), 79-90. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48223207>

Gómez Santos, M. (2020). *Evaluación de Tratamientos Pre-germinativos en Semilla de Espárrago (Asparagus officinalis L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Repositorio digital. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/47285>

Goudey Stephen, J., Saini, H. & Spencer, M. (1988). Role of nitrate in regulating germination of *Sinapis arvensis* L. (Wild mustard). *Plant. Cell and Environment* ,11(1), 9-12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1988.tb01770.x>

- Ghaffar, T., Irshad, M., Anwar, Z., Aqil, T., Zulifqar, Z., Tariq, A., Kamran, M., Ehsan, N. and Mehmood, S. (2014) Recent trends in lactic acid biotechnology: a brief review on production to purification. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(2), 222-229. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.03.002>
- Guerrero Padilla, A. (2019). Estudio geomorfológico y edafológico en el desarrollo de *Persea americana* (Lauraceae), *Asparagus officinalis* (Asparagaceae) y *Saccharum officinarum* (Poaceae) en la provincia de Trujillo, Perú. *Arnaldoa* 26 (1), 452. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26124>
- Gupta, R. & Chakrabarty, S.K. (2013). Gibberellic acid in plant. *Plant Signaling & Behavior*, 8(9), 1-5 DOI: 10.4161/psb.25504
- Hayek, S.A., Ibrahim, S.A. (2013). Limitaciones y desafíos actuales con las bacterias del ácido láctico: una revisión. *Nutrición alimentaria ciencia* 04, 73–87. doi: 10.4236/fns.2013.411a010
- He, H., de Souza Vidigal, D., Snoek, L.B., Schnabel, S., Nijveen, H., Hilhorst, H. y Bentsink, L. (2014). Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*, *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6603–6615. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru378>
- Hernández Espinal, L. y Moreno Gallegos, T. (2014). Análisis de las generaciones F<sub>1</sub> y F<sub>2</sub> de híbridos experimentales y comerciales de sorgo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 5(1), 49-59. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v5n1/v5n1a5.pdf>
- Hernández, P., Rodríguez, J., Cintas, L., Moreira, W., Sobrino, O., Fernández, M. y Sanz, B. (1993). Utilización de bacterias lácticas en el control de microorganismos patógenos de los alimentos. *Departamento de Nutrición y Bromatología II*, 9, 37-48. [https://www.sem microbiologia.org/wp-content/uploads/2021/01/9\\_extra.pdf#page=42](https://www.sem microbiologia.org/wp-content/uploads/2021/01/9_extra.pdf#page=42)

- Herrero, J. y Alizaga, R. (1999). Ruptura de la latencia en semillas de Balsa (*Ochroma pyramidale*). *Tecnología en marcha*, 13(2), 34-40. [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/4141/3740](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/4141/3740)
- Herrera-Corredor, C., Carrillo-Castañeda, G., González-Hernández, V., Carrillo-Salazar, J., Peña-Valdivia, C. y García-Nava, J. (2011). Tratamientos químicos para recuperar la germinación en semillas de cebolla. *Revista Chapingo serie Horticultura*, 17 (2), 63-72. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60949936007>
- Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E. y Jiménez, V. (2006). *Germinación y crecimiento de la planta*. Vol. 4. Editorial Universidad de Costa Rica. España. p. 18. [https://books.google.com.pe/books?id=ohoEQYJFq0QC&pg=PA39&dq=germinacion+hipogea&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=germinacion%20hipogea&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=ohoEQYJFq0QC&pg=PA39&dq=germinacion+hipogea&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=germinacion%20hipogea&f=false)
- Huang, Z., Footitt, S. & Finch Savage, W.E. (2014). The effect of temperature on reproduction in the summer and winter annual *Arabidopsis thaliana* ecotypes Bur and Cvi, *Annals of Botany*, 113(6), 921–929. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu014>
- Iglesias, D.J. y Talón, M. (2013). Giberelinas. En J. Ascon-Bieto y M. Talón. (Eds.). *Fundamentos de la fisiología*. (pp. 399-417). McGraw-Hill - Interamericana de España, s. l.
- Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas. [IPEH]. (2023). *Espárragos*. Recuperado de <https://www.ipeh.org.pe/esparragos-2/>
- International Seed Testing Association [ISTA]. (2022). *International Rules for Seed Testing*, Zürichstr, Bassersdorf, Suiza.
- International Seed Testing Association [ISTA]. (2009). *Handbook on seedling evaluation* (3rd ed.). Zürichstr, Bassersdorf, Suiza.

- International Seed Testing Association [ISTA]. (2003). *Tetrazolium Testing Handbook. Asparagus, Liliaceae*. (Vol 1, 1st.ed).
- Jaffar, N.S., Jawan, R., Chong, K.P. (2023). The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production - A mini review. *Front Plant Sci.* 13, 1-13. doi: 10.3389/fpls.2022.1047945
- Kang, S.M., Radhakrishnan, R., You, Y.H., Khan, A.L., Park, J.M., Lee, S.M. & Lee, I.J. (2015). Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth-promoting microorganisms. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 65 (1), 36-44, DOI: 10.1080/09064710.2014.960889
- Lamont, J.R., Wilkins, O., Bywater-Ekegård, M. & Smith, D. (2017). From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production, *Soil Biology and Biochemistry*, 111, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>.
- Ligarreto, G. y Magnitskiy, S. (2007). El efecto del nitrato de potasio, del ácido giberélico y del ácido indolacético sobre la germinación de semillas agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Revista colombiana de ciencias hortícolas*, 1(2), 137-141.
- Limanska, N., Ivanytsia, T., Basiul, O., Krylova, K., Biscola, V., Chobert, J., Ivanytsia, V.O. and Haertlé, T. (2013). Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(5),1587–1595. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1200-y>
- Lizama Salazar, C.J. (2012). *Acondicionamiento osmótico en semillas de cebolla de diferentes edades fisiológicas* (Tesis de pregrado). Universidad Mayor Santiago de Chile, Chile. Repositorio de la UMayor. <http://repositorio.umayor.cl/xmlui/handle/sibum/460>

- Lwin, K.M., Myint, M.M., Tar, T. & Aung, W.Z.M. (2012). Isolation of plant hormone (Indole-3-Acetic Acid—IAA) producing rhizobacteria and study on their effects on maize seedling. *Eng. Journal*, 16(5) 137–144. [DOI:10.4186/ej.2012.16.5.137](https://doi.org/10.4186/ej.2012.16.5.137)
- Lutz, M.P., Michel, V., Martinez, C. & Camps, C. (2012). Lactic acid bacteria as biocontrol agents of soil-borne pathogens. *Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens*, 78, 285–288.
- Macías-Holguín, C., Canchignia-Martínez, H., Delgado-Basurto, V., Paucar-Nieto, F., Arellano-Ibarra, K., Cedeño-Moreira, A. (2023). Efectos de la co-inoculación de Bioformulados (PGPR's) sobre el porcentaje de germinación y promover el crecimiento en plántula de papaya (*Carica papaya* L.). *Manglar*, 20(2), 149-155. <http://dx.doi.org/10.57188/manglar.2023.017>
- Marín, S.J., Mejía, C.J.A, Hernández, L.A., Carballo, C.A. y Peñam, L.A. (2007). Acondicionamiento osmótico de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Agricultura Técnica en México* 33(1), 63-71. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agritm/v33n1/v33n1a7.pdf>
- Martínez, J., Monte, E. y Ruiz, F. (2002). Fitocromos y desarrollo vegetal. Universidad Nacional Nordeste de la Facultad de Ciencias exactas y Naturales. <https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Fitocromos%20y%20desarrollo%20vegetal.pdf>
- Martínez Pastur C., Arena, M.E. y Fernández, C. (1994). Influencia del ácido giberélico y el nitrato de potasio en la germinación de semillas de *Nothofagus betuloides* (Mirb.) Oerst. *Sistemas Forestales*, 3 (1), 83-89. <https://doi.org/10.5424/523>
- Matakiadis, T., Alboresi, A., Jikumaru, Y., Tatematsu, K., Pichon, O., Renou, J., Kamiya, Y., Nambara, E. & Truong, H-N. (2009). The Arabidopsis Abscisic Acid Catabolic Gene *CYP707A2* Plays a Key Role in Nitrate Control of Seed Dormancy, *Plant Physiology*, 149(2), 949–960, <https://doi.org/10.1104/pp.108.126938>

- Matilla, A. (2013). Desarrollo y germinación de las semillas. En J. Ascon-Bieto y M. Talón. (Eds.). *Fundamentos de la fisiología*. (pp. 537-556). McGraw-Hill - Interamericana de España, s. l.
- Merola, R. y Saulo, D. (2012). *Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras*. INIA. Recuperado de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/12563/1/Pasantia-Post-grado-Merola-Saulo Diaz-2012.pdf>
- Mekuria Bereded Sheferie. (2023). Effect of Seed Priming Methods on Seed Quality of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Genotypes. *Advances in Agriculture*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2023/3951752>
- Mingli- Liu, Ch.W., Qing, X., Yonghao, P., Bingli, J., Litian, Z., Yue, Z., Zhuangbo, T., Jie, L., Chuanxi, M., Cheng, C. & Haiping, Z. (2023). Genome-wide identification of the CPK gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) and characterization of TaCPK40 associated with seed dormancy and germination. *Plant Physiology and Biochemistry*, 196, 608-623. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.02.014>
- Mohammad Fahrulazri, J., Nurfaten Farhanah R., Mohd, T., Yusof., Noor B. Saidi., Norhayati Ramli., Nur A. I. M. Zainudin. & Amalia, M.H. (2022). Investigating the potential of endophytic lactic acid bacteria isolated from papaya seeds as plant growth promoter and antifungal agent. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 45(1), 207–233. doi: 10.47836/PJTAS.45.1.12
- Myazin Georgievich, N., Kozhokina Nikolaevna, A., Brekhov Timofevich, P. y Salgado Pacheco, T. (2021). El efecto de los microelementos sobre la germinación de semillas y el rendimiento de la masa verde de trigo de invierno en el periodo vegetative. *Prisma Tecnológico*, 12 (1), 1-6. DOI: 10.33412/pri.v12.1.2846
- Muhammad-Moaaz A., Talha, Javed., Rosario Paolo M., Rubab Shabbir., Irfan, Afzal. & Ahmed, Fathy Y. (2020). Effect of Seed Priming with Potassium Nitrate on the



Performance of Tomato. *Agriculture* 10,(498), 1-10.  
<https://doi.org/10.3390/agriculture10110498>

Murthy, K., Malini, M., Savitha, J. & Srinivas, C. (2012). Lactic acid bacteria (LAB) as plant growth promoting bacteria (PGPB) for the control of wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *Pest Manage. Hort. Ecosyst*, 18 (1), 60–65.

Nguyen H.H. & Tram, T.Le. (2021). Use of lactic acid bacteria in peanut seed treatment. *J. Technol. Innovation (JTIN)* 1,(1) 20–22. doi: [10.26480/jtin.01.2021.20.22](https://doi.org/10.26480/jtin.01.2021.20.22)

Nikhade Chakradhar, A. (2017). Effect of chemical treatments on *Abrus precatorius* l. seeds. *Cosmos Multidisciplinary Research E-Journal* 2(1), 68-73. [www.cmrj.in](http://www.cmrj.in)

Niño Aguilar, De Jesús. (2009). Efectos genéticos y heterosis en híbridos F1 y F2 de Triticale (*X Triticosecale* Witt.) para rendimiento y calidad de semilla (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma Antonio Narro. Repositorio Digital de la Universidad Autónoma Antonio Narro. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/6264>

Nonogaki, H., Bassel, G. & Bewley, D. (2010). Germination—Still a mystery. *Plant Science* 179, (6), 574-581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>.

Organización de Investigación EM Japón (EMRO). (1994). *Guía de la tecnología de EM*. Tecnología EM. Recuperado de <https://www.em-la.com/es/quem-somos/emro/>

Palomino, G. (2015). *Optimización del proceso de producción del nitrato de potasio* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile. Archivo digital. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132050/Optimizacion-del-proceso-de-produccion-del-nitrato-de-potasio.pdf?sequence=4>

- Pegorin, P., Guerreiro, R. & Ferreira G. (2022). Histórico e classificação da dormência: a grande 52olémica. En Marchello, A., Alecio, A., Teixeira, A., Souza, E., Gimenez, J., y Telascrea, M. (Eds). *Dormência de sementes: provocações e reflexões*. (pp 10-27). Instituto de Biociências de Botucatu.
- Peretti, A. (1994). *Manual para análisis de semilla*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Hemisferio Sur. 282 p.
- Pérez García, F. y Pita Villamil, J.M. (1998). *Germinación de Semillas*. Hojas Divulgadoras. Núm. 2090-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid. 20 p.
- Pérez García, F. y Pita Villamil, J.M. (1999a). *Dormición de Semillas*. Hojas Divulgadoras. Núm. 2103-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid. 20 p.
- Pérez García, F. y Pita Villamil, J.M. (1999b). *Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas*. Hojas Divulgadoras. Núm. 2112-HD. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid. 20 p.
- Prakash Soban, Patni Babita, Jangpangi Devesh & Chauhan Jaidey. (2023). Estudios sobre germinación de semillas de *Delphinium denudatum* Wall. Ex Hook & Thoms. *Revista trimestral de ciencias biológicas*, 20(2), 255-257. <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:bil&volume=20&issue=2a&article=032#top>
- Ramírez, J., Ulloa P., Velásquez, M., Ulloa, J. y Romero, A. (2011). Bacterias Lácticas: Importancia en Alimentos y sus efectos en la Salud. *Nayarit: Universidad Autónoma de Nayarit, Centro de Tecnología de Alimentos*, 7, 1-15.
- Rodríguez Villen, A. (1991). Comercialización del espárrago. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. Recuperado de [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1990\\_08.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1990_08.pdf)

- Rodríguez, D. y Buitrago, D. (2019). *Evaluación de los microelementos Zinc, Cobre, Magnesio y Manganeso, como enraizante en el cultivo de arroz (Oryza Sativa l). Variedades Fedearroz 67, Fedearroz 68 y Oryzica 1 en el municipio de Piedras – Tolima* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Repositorio de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/27960>
- Rodríguez, N. (2022). *Perú busca recuperar el terreno perdido como principal agroexportador de espárrago*. Valencia Fruits. Recuperado de <https://valenciafruits.com/peru-busca-2022-recuperar-terreno-perdido-principal-exportador-esparrago/>
- Romero García, R. (2008). Obtención del ácido sulfúrico y su producción en Huelva. *Técnica Industrial*. Recuperado de <https://www.tecnicaindustrial.es/wp-content/uploads/Numeros/35/46/a46.pdf>
- Ronco, M., Beltrano, J. y Giménez, D. (2011). *Fisiología de la germinación. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales*. Universidad Nacional de la Plata. [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/104169/mod\\_resource/content/2/germinaci%C3%B3n.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/104169/mod_resource/content/2/germinaci%C3%B3n.pdf)
- Sánchez, B., Elizabeth Pacheco, E., Lugo, G., Reyes, A. y García, E. (2017). Métodos de escarificación en semillas de *Guaiacum coulteri*, especie amenazada del bosque tropical caducifolio del norte de Sinaloa, México. *SciELO*, 74(2), 262-268. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/gbot/v74n2/0717-6643-gbot-74-02-00262.pdf>
- Shafiei, A.M. & Ghobadi, M. (2012). The effects of source of priming and post-priming storage duration on seed germination and seedling growth characteristics in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Agric. Sci*, 4(9), 256-268. doi:10.5539/jas.v4n9p256
- Shehzad, M., Ayub, M., Ahmad, A.U.H. & Yaseen, M. (2012). Influence of priming techniques on emergence and seedling growth of forage sorghum (*Sorghum*

*bicolor* L.). *J. Anim. Plant Sci*, 22, 154–158.

(Sierra seed, comunicación personal, 30 de agosto de 2023).

Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior [SIICEX]. (2022). *Espárrago*. Exportemos.pe. Recuperado de [https://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?\\_page\\_=172.17100&\\_portletid\\_=sfichaproductoinit&scriptdo=cc\\_fp\\_init&pproducto=85&pnomproducto=Esp](https://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?_page_=172.17100&_portletid_=sfichaproductoinit&scriptdo=cc_fp_init&pproducto=85&pnomproducto=Esp)

Sistemas Integrado de Estadística Agraria [SIEA]. (2023). Estadística de agroexportaciones. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. Recuperado de <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiOGFjZGUwN2MtMzBkOS00YjEzLTg0NjEtODA1OTJiNzM0YjNiIiwidCI6IjdmMDg0NjI3LTdmNDAtNDg3OS04OTE3LTk0Yjg2ZmQzNWYzZiJ9>

Srivastava, R., Khalid, A., Singh, U.S. & Sharma, A.K. (2010). Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biological Control*, 53(1), 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.11.012>.

Soto Angiano, J., Cárdenas Angiano, J. & García Palma, J. (2017). Inoculation of substrate with lactic acid bacteria for the development of *Moringa oleifera* Lam plantlets. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51(2), 241-247. <https://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/733>

Soto Escobar, S. (2015). *Efecto de la aplicación de fertilizantes biológicos en el rendimiento del cultivo de arveja (Pisum sativum L.) variedad Usui en condiciones de Chuclaccasa Yauli-Huancavelica* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Huancavelica. Repositorio de la Universidad Nacional de Huancavelica. <https://repositorio.unh.edu.pe/items/fea6d6b5-6d8d-4795-90ed-d5c5de8617a9>

- Stoyanova, L.G., Ustyugova, E.A. & Netrusov, A.I. (2012). AI Metabolitos antibacterianos de las bacterias del ácido láctico: su diversidad y propiedades. *Appl Biochem Microbiol* 48 ,229–243. <https://doi.org/10.1134/S0003683812030143>
- Suárez, D., Fernández, J. y Melgarejo, L. (2011). Efecto de la luz y del ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) en la germinación de *Minthostachys mollis* kunth. griseb. (Labiatae). *Acta biol. Colomb*,16 (2), 149 – 154. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2011000200012](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2011000200012)
- Suárez Lalangui, J. (2010). *Evaluación de semillas F1 y F2 sobre algunas características agronómicas y el rendimiento del cultivo de pimiento (Capsicum annum) con y sin tutoreo en la zona de Quevedo* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Repositorio de UTEQ. <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/2586>
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume I.
- Tapfumaneyi, L., Dube, P., Mavengahama, S. & Ngezimana, W. (2023). Effect of gibberellic acid and potassium nitrate seed treatments on the emergence and seedling vigor of Amaranth and *Cleome gynandra*. *Agrosyst Geosci Environ* 6(1),1-13. <https://doi.org/10.1002/agg2.20359>
- Temel, S., Bilal, Keskin, B. & Çakmakçı, S. (2023). Effect of different dormancy-breaking methods on seed germination and vigour of *Atraphaxis spinosa*. *Zemdirbyste-Agriculture*, 110(1),39–46. DOI 10.13080/z-a.2023.110.006
- Tilki, F. & Kebesoglu, A. (2009). Seed Germination Characteristics of Christ's Thorn and Pomegranate. *Artvin Çoruh University Faculty of Forestry Journal*, 10(1), 9–18 (in Turkish). <http://ofd.artvin.edu.tr/en/pub/issue/2259/29758>

- Torres Vargas, M. (2017). *Respuesta agroeconómica de las f1 y f2 de dos híbridos de maíz amarillo (Zea mays l.) en la costa central* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/discover?scope=%2F&query=giberelina&submit=>
- Torres Pascua, I. (2019). *Producción biotecnológica de ácido D-Láctico a partir de residuos de naranja* (Tesis de Doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/58053/1/T41519.pdf>
- Toorop, P.E. (2015). Nitrate controls testa rupture and water content during release of physiological dormancy in seeds of *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. *Seed Science Research* 25, 138–146. doi:10.1017/S0960258514000397
- Turaeva B.I., Qizi K.K.F., Soliev, A.B. & Kutlieva, G.J. (2021). Gibberellic and indole acetic acids producing features of bacteria from the genus *Lactobacillus* and their effect on plant development. *Asian J. Biol. Life Sci.* 10, (3), 681–686. doi: 10.5530/AJBLS.2021.10.91
- Tyohemba, S. (2023). The Effects of Hydrochloric Acid, Mechanical Scarification and Hot Water on Germination of *Parkia Biglobosa* Seeds (*African Locust Bean*). *ScienceOpen Preprints*, 1.1-35. DOI: 10.14293/S2199-1006.1.SOR-.PPRBUFB.v1
- Vafadust, M., Mahmoudi, J., Naseri, B. (2022). Investigation the effect of priming treatments on germination characteristics of *Trifolium resupinatum*. *Journal of Seed Research*, 12 (2), 24-32. Doi: 10.30495/jsr.2023.1978072.1245
- Valdivia Trujillo, C. (2015). *Prueba de tetrazolio en semillas de espárrago (Asparagus officinalis L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/1420>

- Vargas-Baquero, D. (2020). Bacterias ácido-lácticas como biocontroladoras de la marchitez vascular ocasionada por *Fusarium oxysporum* y *Ralstonia solanacearum* en tomate (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia. Repositorio de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78371/Tesis%20Christian%20BALs%20tomate.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vázquez, C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M.E. y Cervantes, V. (1997). *La reproducción de las plantas: Semillas y meristemos*. Fondo de la Cultura Económica. [http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec\\_5.htm](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_5.htm)
- Vega Celedón, P., Canchignia, H, González, M. y Seeger, M.(2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33-39. DOI: 10.13140/RG.2.1.5158.3609
- Vega Ravello, R. (2013). Manejo integrado y uso de semilla certificada f1 en el cultivo de espárrago. *Guía Técnica de Agrobanco*. Recuperado de [https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/016-b-esparragos\\_MANEJO\\_SEMILLA.pdf](https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/016-b-esparragos_MANEJO_SEMILLA.pdf)
- Vivian, R., Silva, A., Gimenes, Jr., Fagan, E., Ruiz, S., y Labonia, V. (2008). Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência – breve revisão. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, 26(3). 695-706. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000300026>
- Vleeshouwers, L., Bouwmeester, H. & Karssen, C. (1995). Redefining Seed Dormancy: An Attempt to Integrate Physiology and Ecology. *Journal of Ecology*, 83, (6), 1031-1037. <https://doi.org/10.2307/2261184>
- Willan, R.L. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de

<https://www.fao.org/3/ad232s/ad232s00.htm#TOC>

Zambrano Marcos, A.J. (2018). *Superación de la latencia en semilla de kudzu (Pueraria phaseoloides)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3565>

Zomer, M., Moreira, B. & Pausas, J. (2022). Fire and summer temperatures interact to shape seed dormancy thresholds. *Annals of Botany*, 129, 809-816. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac047>



## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Análisis Tukey para porcentaje de germinación fisiológica

Study: anva ~ "Tratamientos"

HSD Test for PN

Mean Square Error: 5.083

Tratamientos, means

PN	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75	
T1	73.25	2.217	4	1.127	71	76	71.75	73.0	74.50
T2	60.00	2.000	4	1.127	57	61	60.00	61.0	61.00
T3	81.25	2.217	4	1.127	78	83	81.00	82.0	82.25
T4	19.00	2.708	4	1.127	15	21	18.75	20.0	20.25
T5	81.75	2.062	4	1.127	80	84	80.00	81.5	83.25

Alpha: 0.05 ; DF Error: 15

Critical Value of Studentized Range: 4.367

Minimum Significant Difference: 4.923

Treatments with the same letter are not significantly different.

PN groups

T5	81.75	a
T3	81.25	a
T1	73.25	b
T2	60.00	c
T4	19.00	d

## Anexo 2: Análisis Tuckey para el porcentaje de plántulas normales

Study: anva ~ "Tratamientos"

HSD Test for PN

Mean Square Error: 12.04

Tratamientos, means

PN	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75	
T1	75.50	5.8023	4	1.735	70	81	70.75	75.5	80.25
T2	33.25	2.0616	4	1.735	31	36	32.50	33.0	33.75
T3	33.25	3.0957	4	1.735	29	36	32.00	34.0	35.25
T4	80.00	0.8165	4	1.735	79	81	79.75	80.0	80.25

Alpha: 0.05 ; DF Error: 12

Critical Value of Studentized Range: 4.199

Minimum Significant Difference: 7.285

Treatments with the same letter are not significantly different.

PN groups

T4 80.00 a

T1 75.50 a

T2 33.25 b

T3 33.25 b

### Anexo 3: Análisis Tuckey para el porcentaje de plántulas anormales

Study: anva ~ "TRATAMIENTOS"

HSD Test for PA

Mean Square Error: 5.104

TRATAMIENTOS, means

	PA	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75
T1	15.50	3.109	4	1.13	13	20	13.75	14.5	16.25
T2	60.75	1.258	4	1.13	59	62	60.50	61.0	61.25
T3	57.25	2.500	4	1.13	54	60	56.25	57.5	58.50
T4	12.75	1.708	4	1.13	11	15	11.75	12.5	13.50

Alpha: 0.05; DF Error: 12

Critical Value of Studentized Range: 4.199

Minimum Significant Difference: 4.743

Treatments with the same letter are not significantly different.

PA groups	
T2 60.75	a
T3 57.25	a
T1 15.50	b
T4 12.75	b

#### Anexo 4: Análisis Tuckey para el porcentaje de semillas no germinadas

Study: anva ~ "TRATAMIENTOS"

HSD Test for SN

Mean Square Error: 6.646

TRATAMIENTOS, means

	SN	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75
T1	9.00	4.243	4	1.289	6	15	6.00	7.5	10.50
T2	6.00	1.414	4	1.289	5	8	5.00	5.5	6.50
T3	9.50	1.291	4	1.289	8	11	8.75	9.5	10.25
T4	7.25	2.217	4	1.289	4	9	7.00	8.0	8.25

Alpha: 0.05 ; DF Error: 12

Critical Value of Studentized Range: 4.199

Minimum Significant Difference: 5.412

Treatments with the same letter are not significantly different.

SN groups	
T3	9.50 a
T1	9.00 a
T4	7.25 a
T2	6.00 a

### Anexo 5: Análisis ANVA para el porcentaje de Semillas Frescas

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>Fcal</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Tratamientos	3	9.69	3.23	0.885942857	0.476
Error	12	43.75	3.65		
Total	15	53.44	3.56		
CV	71.05				

### Anexo 6: Análisis ANVA para el porcentaje de semillas duras

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>Fcal</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Tratamientos	3	9.69	3.23	1.201860465	0.351
Error	12	32.25	2.69		
Total	15	41.94	2.80		
CV	35.93				

### Anexo 7: Análisis ANVA para el porcentaje de semillas muertas

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>Fcal</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Tratamientos	3	13.69	4.56	3.476825397	0.0505
Error	12	15.75	1.31		
Total	15	29.44	1.96		
CV	166.64				