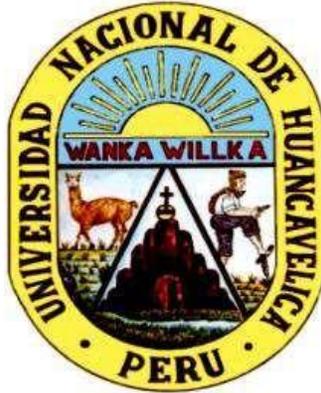


UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA

(Creada por ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA

TESIS

**EFFECTO DE ESCARIFICACIÓN FÍSICA EN LA GERMINACIÓN DE
SEMILLA DE ALFALFA (*Medicago sativa*) VARIEDAD AGP 350**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

PASTOS Y FORRAJES

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO ZOOTECNISTA

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

OCHOA ANTEZANA, Juan Lucho

HUANCAVELICA – PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA
FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En el Auditorium de la Facultad de Ciencias de Ingeniería, a los 05 días del mes de junio del año 2019, a horas 11:00 a.m, se reunieron los miembros del Jurado Calificador conformado por los siguientes: **Dr. Manuel CASTREJON VALDEZ (PRESIDENTE)**, **M.Sc. Héctor Marcelo GUILLEN DOMÍNGUEZ (SECRETARIO)**, **M.Sc. Rodrigo HUAMÁN JURADO (VOCAL)**, designados con Resolución de Decano N° 135-2018-FCI-UNH, de fecha 05 de octubre del 2018 y ratificados con Resolución de Decano N° 090-2019-FCI-UNH de fecha 30 de mayo del 2019, a fin de proceder con la calificación de la sustentación del informe final de tesis titulado: "EFECTO DE ESCARIFICACIÓN FÍSICA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLA DE ALFALFA (*Medicago sativa*) VARIEDAD AGP 350", presentado por el Bachiller **Juan Lucho OCHOA ANTEZANA**, para optar el **Título Profesional de Ingeniero Zootecnista**; en presencia del **M.Sc. José Luis CONTRERAS PACO**, como Asesor del presente trabajo de tesis. Finalizado la evaluación a horas ~~12:30 p.m~~ ^{12:30 p.m} se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto. Luego de una amplia deliberación por parte de los Jurados, se llegó al siguiente resultado:

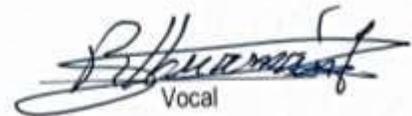
APROBADO POR... Mayoria

DESAPROBADO

En señal de conformidad, firmamos a continuación:


Presidente


Secretario


Vocal


Vº Bº Decano

**EFFECTO DE ESCARIFICACIÓN FÍSICA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLA DE
ALFALFA (*Medicago sativa*) VARIEDAD AGP 350**

AUTOR

OCHOA ANTEZANA JUAN LUCHO

ASESOR

M. Sc. José Luis, CONTRERAS PACO

DEDICATORIA

A mis queridos padres: Ochoa Rojas, Juan de Dios y Antezana Castro, Francisca; a mi novia Neli Mesahuanca, mis hermanos (Vilma, Rafael, Doris, Jolber y Ada) por su apoyo incondicional para cumplir mi objetivo de terminar mi carrera.

AGRADECIMIENTO

Al término de la presente quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que contribuyeron en el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

Al M. Sc. José Luis Contreras Paco, que en calidad de asesor de este proyecto de investigación (Tesis) me brindó su apoyo incondicional, orientación y dedicación para la ejecución, análisis de datos y redacción del informe final de tesis.

Al Ing. James Curasma Ccente, por su apoyo y orientación incondicional durante el proceso de ejecución, análisis e interpretación de datos, así mismo en la redacción del informe final de tesis

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento sincero a mis familiares, amigos y compañeros quienes supieron darme su constante apoyo para poder culminar esta parte de mi vida profesional.

Así mismo quiero expresar mis agradecimientos al laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos – LUNEA, por darme las facilidades del caso para realizar este trabajo de investigación.

También quiero expresar mis agradecimientos a los ingenieros de Agro Rural – Huancavelica, por apoyarme con la semilla de alfalfa para realizar la tesis.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	xiv

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema.....	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos:.....	3
1.4. Justificación.....	4

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.....	6
2.1.1. A nivel internacional	6
2.1.2. A nivel nacional	25
2.1.3. A nivel local.....	25
2.2. Bases teóricas	26

2.2.1. Escarificación física	26
2.2.2. La semilla	31
2.2.2.1. Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) variedad AGP 350	32
2.2.3. Germinación de las semillas	34
2.2.3.1. Factores que intervienen en la germinación.....	37
2.2.3.2. Factores que impiden la germinación de la semilla.....	38
2.2.3.3. Tratamientos pregerminativos.....	39
2.2.4. Plántulas normales	40
2.2.4.1. Desarrollo de las plántulas	40
2.3. Hipótesis.....	41
2.4. Definición de términos.....	41
2.5. Variables de estudio	43
2.5.1. Variable dependiente.....	43
2.5.2. Variable independiente.....	43
2.5.3. Definición operativa de las variables e indicadores	43

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación.	44
3.2. Nivel de investigación.....	44
3.3. Método de investigación.	45
3.4. Diseño de investigación.	45
3.5. Población, muestra y muestreo.....	47
3.5.1. Población.	47
3.5.2. Muestra.....	47
3.5.3. Muestreo.	48

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	48
3.6.1. Técnica	48
3.6.2. Instrumento.	49
3.7. Procedimiento de recolección de datos.	49
3.7.1. Obtención de datos.	49
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos estadísticos.	51

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados.....	52
4.1.1. Resultado de escarificación física sobre la germinación de semilla de alfalfa.....	52
4.1.2. Resultado de los tiempos de remojo sobre la germinación de semilla de alfalfa.....	53
4.1.3. Resultado de la temperatura sobre la germinación de semilla de alfalfa.....	55
4.1.4. Resultados de la interacción entre los tiempos de remojo y temperaturas sobre la germinación de semilla de alfalfa	56
4.2. Discusión	57
CONCLUSIONES	63
RECOMENDACIONES	64
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	65
ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de variables.....	43
Tabla 2.	Medias de germinación de semillas de alfalfa con los factores de tiempos de remojo y temperatura.....	52
Tabla 3.	Medias de germinación de semilla de alfalfa para los tiempos de remojo.....	53
Tabla 4.	Medias de germinación de semilla de alfalfa con el factor temperatura.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Curva de medias de germinación de semilla de alfalfa para los tiempos de remojo.....	54
Figura 2.	Curva de medias de germinación de semilla de alfalfa para las temperaturas..	56
Figura 3.	Interacción entre las diferentes temperaturas y los tiempos de remojo sobre la germinación de semilla de alfalfa.	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Matriz de consistencia	74
Anexo 2.	Base de datos	75
Anexo 3.	Supuestos de varianza, tablas y figura de análisis de varianza	76
Anexo 4.	Panel fotográfico.....	81

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350 en el Distrito, Provincia y Departamento de Huancavelica, se trabajó con muestras de semillas que fueron tomadas con un tubo de muestreo de Agro Rural – Huancavelica bajo las normas del (ISTA, 2016). Para determinar el porcentaje de germinación de semilla de alfalfa, estos se sometieron a la inmersión en agua a diferentes temperaturas (°C) 10, 20, 30 y 40, seguido de diferentes tiempos de remojo (0, 10, 20 y 30 minutos) para cada tratamiento, las semillas fueron colocadas en papel filtro y cubiertas con la misma para luego enrollarlas y colocar en una bolsa de forma vertical, luego se sometió a un periodo de pre – enfriamiento por 3 días a una temperatura de 4°C, después de ello se pasó a una incubadora a 20°C por 10 días. El experimento fue conducido en un diseño completamente al azar (DCA), con arreglo factorial de 4 x 4 con 5 repeticiones por tratamiento, teniendo en total 80 unidades experimentales (100 semillas = 3g), los datos fueron analizados con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS 9.4.) y Microsoft Excel 2016. El efecto de los tiempos de remojo fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$), siendo mejor la germinación a menor tiempo de remojo con el 87,69%; sin embargo, para las diferentes temperaturas no fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$), comportándose de manera similar en todos los tratamientos, siendo mejor la germinación a mayor temperatura con el 86,31%. Los porcentajes de germinación para los diferentes tiempos de remojo de 0, 10, 20 y 30 minutos fue de: 87,69%; 85,94%; 81,63% y 84,69% respectivamente, observándose que fue mejor a los 0 minutos (cero minutos) en 30°C con el 92,50%; mientras que los porcentajes de germinación para las diferentes temperaturas de 10, 20, 30 y 40°C fueron de : 85,69%; 83,06%; 84,88% y 86,31% respectivamente, siendo el mejor a los 40°C en 0 minutos de tiempo de remojo con el 90,50%;. La interacción entre las diferentes temperaturas y los tiempos de remojo fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para la germinación de semillas de alfalfa. Se concluye que hay una interacción positiva entre los tiempos de remojo y las diferentes temperaturas en la germinación de semilla de alfalfa, mientras que los mejores porcentajes de germinación se dio a los 0 minutos y 40°C de tiempos de remojo y temperatura respectivamente.

Palabras clave: Escarificación física, germinación, porcentaje de germinación, temperatura, tiempo de remojo.

ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the effect of physical scarification on the germination of alfalfa seed (*Medicago sativa*) AGP 350 variety in the District, Province and Department of Huancavelica, we worked with seed samples that were taken with a sampling tube of Agro Rural - Huancavelica under the norms of (ISTA, 2016). To determine the percentage of germination of alfalfa seeds, these were subjected to immersion in water at different temperatures ($^{\circ}$ C) 10, 20, 30 and 40, followed by different soaking times (0, 10, 20 and 30 minutes) for each treatment, the seeds were placed on filter paper and covered with the same and then rolled and placed in a bag vertically, then subjected to a pre-cooling period for 3 days at a temperature of 4° C, after from it was passed to an incubator at 20° C for 10 days. The experiment was conducted in a completely randomized design (DCA), with a factorial arrangement of 4×4 with 5 repetitions per treatment, having a total of 80 experimental units (100 seeds = 3g), the data were analyzed with the statistical package Statistical Analysis System (SAS 9.4.) And Microsoft Excel 2016. The effect of the soaking times was statistically significant ($p < 0.05$), with better germination at a shorter soaking time with 87.69%; However, for the different temperatures it was not statistically significant ($p < 0.05$), behaving in a similar way in all the treatments, being germination better at a higher temperature with 86.31%. The percentages of germination for the different soaking times of 0, 10, 20 and 30 minutes was: 87.69%; 85.94%; 81.63% and 84.69% respectively, observing that it was better at 0 minutes (zero minutes) at 30° C with 92.50%; while the percentages of germination for the different temperatures of 10, 20, 30 and 40° C were: 85.69%; 83.06%; 84.88% and 86.31% respectively, being the best at 40° C in 0 minutes of soaking time with 90.50% ;. The interaction between the different temperatures and the soaking times was statistically significant ($p < 0.05$) for the germination of alfalfa seeds. It is concluded that there is a positive interaction between the soaking times and the different temperatures in the germination of alfalfa seeds, while the best percentages of germination occurred at 0 minutes and 40° C of soaking times and temperature respectively.

Key words: Physical scarification, germination, percentage of germination, temperature, soaking time.

INTRODUCCIÓN

La producción de forraje en las zonas alto andinas, es muy importante para la alimentación de la ganadería sobre todo en época seca, ya que los animales en esta época carecen de pastizales que brinden nutrientes suficientes. Los pastos, y en particular las leguminosas, son muy importantes para el desarrollo de los sistemas agrarios sostenibles debido a su potencial de fijación de nitrógeno atmosférico. Producto de ello hoy gran parte de los productores pecuarios están empleando la producción de forraje a través de los pastos cultivados, experimentando en muchos casos bajos porcentajes de germinación de las semillas adquiridas. Este problema puede ser a causa de las diferentes condiciones climáticas del Perú y en este caso de la Región Huancavelica.

La mayoría de las semillas de leguminosas presentan bajos porcentajes de germinación, esto se debe al fenómeno de la dormancia o latencia, que generalmente en estas especies es causada por las mismas semillas, cuya capa exterior es impermeable. Producto de ello es que las semillas germinarán solo cuando las condiciones estén dadas para el buen crecimiento de las plántulas, a ello se le conoce como un mecanismo ecológico, este mecanismo presenta una limitación cuando se busca un alto porcentaje de germinación de semillas, por ello los bancos de semillas realizan pruebas de germinación antes de su conservación en la cámara frigorífica, así mismo el análisis o estimación de la viabilidad de semillas se realizan cada diez años; todo ello se realiza bajo las normas del ISTA con las adaptaciones necesarias en cada caso.

Hoy en día existen muchos métodos de escarificación aplicadas con la finalidad de romper la latencia y así aumentar la germinación en semillas de leguminosas; uno de ellos es la escarificación física, cuyos resultados dependerán de la especie. Los métodos más usados para

escarificar las semillas de alfalfa es el químico (ácido sulfúrico) y física (temperaturas tiempos de remojo y otros); sin embargo, se deben evitar los tratamientos de escarificación que puedan dañar las semillas, ya que aun cuando se usara materiales genéticamente diferentes dentro de la misma especie esto puede generar variabilidad en la sensibilidad al método de escarificación. Bajo estas consideraciones, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350.

El autor.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

Los pastizales cubren alrededor del 40% de la superficie de la tierra y éstos se distribuyen más comúnmente en zonas semiáridas. Las tres grandes áreas de pastizales de América son: i) las grandes planicies del norte y centro de México, parte media de los Estados Unidos y centro-sur de Canadá; ii) las Pampas en Argentina y Uruguay iii) las llanuras de Venezuela y Colombia White *et al.*, (2000). Sin embargo, los pastizales están degradándose lentamente repercutiendo de manera directa en la alimentación de los animales.

Por ello es de mucha importancia conocer y trabajar los procesos de establecimiento de pastos cultivados, con semillas de buena calidad y certificadas; las cuales puedan garantizar un buen establecimiento. Ello es un aspecto que cobra relevancia, al incurrir en altos costos, de allí el valor que tiene el desarrollo de metodologías para verificar la calidad de las semillas que se emplean para el mejoramiento de pastos cultivados (Bernal, 2008).

Actualmente, se cuenta con ciertas dificultades en los métodos de laboratorio para el análisis de germinación de semillas forrajeras altoandinas, de tal manera que estos brinden confianza y seguridad a los distribuidores de semilla y técnicos del sector. Estas dificultades tienen que ver con los métodos utilizados para romper o retirar las cubiertas de las semillas

mediante procesos de escarificación, la dormancia o latencia es un fenómeno que se presenta normalmente en todos los grupos de gramíneas y en muchas leguminosas que han sido domesticadas. Una semilla latente es una semilla que está viva, pero que no germina bajo ciertas condiciones favorables donde si lo hacen otras semillas no latentes de la misma especie (Sierra, 2002).

Dormancia, dormición o de vida latente física de semillas, ésta se manifiesta cuando queda una cantidad de semillas cuyo volumen y dureza no se modifican al final de la prueba de germinación, Hernández (2010). La semilla de alfalfa comenzara a germinar después de que este haya absorbido cerca del 125% de su peso de agua. El movimiento del agua hacia el interior de la semilla es más rápido y la germinación aumenta a medida que se incrementa la temperatura del suelo, debido a una mayor actividad metabólica de la semilla. Este movimiento del agua está relacionado con el contacto entre la semilla y el suelo. Un pobre contacto puede causar bajos porcentajes de germinación, por lo que una adecuada preparación de cama de siembra influye sobre la emergencia de la radícula y los cotiledones (García, 2006).

Sin embargo, su cultivo es relativamente dependiente de la semilla producida en otros países; ya que la producción de semilla a nivel nacional no cubre la demanda debido a su baja calidad y rendimiento, lo cual ocasiona que se tenga poca emergencia y por consecuencia un bajo establecimiento de plántulas, generando así una reducción en los rendimientos por unidad de superficie, García (2006). La escarificación física de la semilla es una técnica que se utiliza con la finalidad de acortar el tiempo de germinación. Se hace por abrasión, con productos químicos (ácido) o físico (cuchillo, aguja, papel de lija), teniendo mucho cuidado de no dañar el interior de la semilla. Además, la escarificación física consiste en someter a las semillas en agua a diferentes

temperaturas o temperatura ambiente por determinados tiempos de remojo; pudiendo tardar minutos, horas o días dependiendo de la dureza de la testa (Pérez, 2008).

La germinación de semilla de alfalfa en gran parte está influenciada por la calidad de la misma; sin embargo, muchas veces las semillas duras de alfalfa son impermeables al agua y los gases, y no germinan incluso en condiciones de laboratorio y de campo ideal. Para facilitar la recepción de agua y gases de la semilla de leguminosas, es posible usar tratamientos de temperatura, tiempos de remojo y otros métodos (Velijevic et al., 2018; Djokic et al., 2017, Kimura y el islam, 2012, citado por Stanisavljevic, 2018). Los tratamientos de temperatura son fáciles de operar, económico, seguro para los trabajadores, ambientalmente seguro, y por lo tanto aceptable, por ello la necesidad de aplicar tratamientos de escarificación física a la semilla de alfalfa variedad AGP 350, con énfasis en los métodos óptimos de reducción de semillas duras y el aumento de la germinación de semillas.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.

1.3.2. Objetivos específicos:

Determinar el efecto de los tiempos de remojo en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.

Determinar el efecto de la inmersión en agua a diferentes temperaturas en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.

Determinar el efecto de la interacción de la inmersión en agua a diferentes temperaturas y tiempos de remojo en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.

1.4. Justificación

Justificación teórica

Esta investigación se realizó con el propósito de aportar al conocimiento existente sobre los métodos de escarificación física en semilla de alfalfa (*Medicago sativa*), aplicando este método se propicia una mayor germinación de las semillas, los resultados que se obtuvieron en esta investigación servirán como base de datos o antecedentes para las instituciones pertinentes o investigadores en el rubro, ya que se demuestra que este método mejora el porcentaje de germinación de semilla. Así mismo con este trabajo se busca corroborar el porcentaje de germinación de semillas que son importados desde diferentes países (Canadá, Nueva Zelanda, etc) las cuales carecen de una certificación internacional, del mismo modo la empresa que importa estas semillas no cuenta con parcelas demostrativas de acuerdo a las exigencias normativas.

Justificación metodológica

Con la finalidad de lograr los objetivos trazados, se aplicó la escarificación física en la germinación de semillas de alfalfa probando tratamientos como la inmersión en agua a diferentes temperaturas y tiempos de remojo, todo ello para conocer el porcentaje de germinación de semillas que fueron importadas de Canadá y que registra una germinación del 85%, de esta forma los resultados de esta investigación se apoyan en técnicas o métodos de investigaciones validas en el

medio. Y serán aplicables o servirán como un antecedente en otros trabajos de investigación similares que se lleven a cabo en la región Huancavelica o el país.

Justificación práctica

El presente trabajo de investigación se realizó debido, a que los pastos cultivados tienen una gran importancia para los productores agropecuarios, lo que ha motivado instalar en un mayor número de áreas; sin embargo, la mayoría de las semillas forrajeras presentan problemas de bajo porcentaje de germinación debido a la dormancia o latencia, producto de ello es que las semillas germinaran solo cuando las condiciones estén dadas para el buen crecimiento de las plántulas. Por ello se busca métodos de escarificación con el objetivo de hacerlas germinar más rápidamente y en mucho mayor cantidad, de este modo el productor obtendrá mayores rendimientos de forraje para la alimentación de su ganado, que consecuentemente mejorará sus condiciones socioeconómicas.

Con este trabajo se busca dar a conocer a todos los productores agropecuarios y el ministerio de agricultura (Agro – Rural) sobre las condiciones idóneas para la instalación de los pastos cultivados, como la de adquirir semillas de distribuidoras reconocidas, las cuales garanticen una germinación por encima del promedio, con lo cual mejoraremos los rendimientos de los pastos cultivados, evaluar de manera rápida y eficiente la germinación de las semillas para su posterior siembra en las parcelas. En cuanto a su importancia o alcance este trabajo busca incentivar a realizar trabajos de investigación en evaluación de germinación de semillas forrajeras y así aportar para el desarrollo del sector agropecuario y la ciencia.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel internacional

Ernest y Staker (1925). Realizaron la investigación: *El efecto del calor seco en la semilla de alfalfa y sus adulterantes – EE. UU.* El objetivo fue obtener más información definitiva sobre la relación del calentamiento en seco con la germinación de la semilla de alfalfa. Las investigaciones incluyen el efecto del calentamiento de semillas en el suelo, en el agua, en atmósferas de diferentes humedades relativas, en dióxido de carbono, en éter, en sulfuro de carbono y en aire seco. Cada Experimento específico ha sido asociado con varias temperaturas (60°C – 90°C). Y con varios periodos de tiempo (1/2, 1, 2, 4 horas). Obteniendo los siguientes resultados, los porcentajes de germinación fue de 90,75%; 90,25%; 89,25% y 86,00% para ½, 1, 2 y 4 horas respectivamente, mientras que para 60°C, 70°C, 80°C y 90°C el porcentaje de germinación fue de 89,50%; 88,75%; 92,25% y 85,75% respectivamente. Y concluyó que el calentamiento de la semilla de alfalfa comercial incrementó el porcentaje de germinación y que a una temperatura de 60°C – 90°C las semillas son operativas, incrementando la germinación de las semillas calentadas frente a las que no se calentó.

Steinbauer (1926). Realizó la investigación: *Diferencias en resistencia a bajas temperaturas mostrado por las variedades del trébol - EE. UU.* El objetivo de este trabajo fue determinar la resistencia relativa del trébol a bajas temperaturas. Las semillas de trébol han sido expuestas a condiciones de laboratorio a temperaturas que van desde 0 hasta -48°C por un periodo de 30 minutos para luego colocarlas a 37°C por un periodo de tres a cuatro horas, así mismo se trabajó con temperaturas de 0°C hasta los 40°C . Obteniendo los siguientes resultados, que a los 0°C la germinación fue de 85,00%; luego disminuyó conforme se incrementa la temperatura, mostrando los siguientes porcentajes de germinación 74,00%; 53,00%; 33,00%; 26,00% 9,00%; 8,50%; 5,50%; 4,00%; 0,00% y 0,00% para 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C respectivamente, mientras que las semillas de trébol no perdieron la viabilidad cuando fueron sometidas a temperaturas de 0 a -48°C con un contenido de humedad inferior a 15 por ciento de su peso. Y concluyó que las semillas con contenido de humedad sobre los 25 – 30% no soportan las bajas temperaturas cayendo la germinación, hay una diferencia considerable entre las variedades en cuanto a la capacidad de soportar bajas temperatura, en general se probaron variedades europeas o del sur.

Clarence y Rincket (1954). Realizaron la investigación: *Efecto del calor en semillas impermeables de alfalfa, trébol dulce, y trébol rojo – EE. UU.* El objetivo fue determinar el porcentaje de germinación de alfalfa, trébol dulce, y trébol rojo bajo el efecto del calor. Los tratamientos térmicos se realizaron en un horno eléctrico de calor seco a una temperatura de 40°C aumentando por intervalo de 10°C hasta los 90°C por diferentes tiempos. Obteniendo los siguientes resultados, cuando la alfalfa y el trébol rojo se trataron con calor por 4 minutos a 90°C , el porcentaje de germinación fue de 84,00% para alfalfa, 80,00% para trébol rojo y 33,00% para el trébol blanco. Además, conforme baja en tiempo los porcentajes de germinación disminuyen, siendo para 1, 2 y

3 minutos de 48,00%; 53,00% y 77,00% respectivamente para semilla de alfalfa, las muestras de semilla del mismo cultivo varían de una a otra. Y concluyeron que existe una relación tiempo – temperatura para alcanzar la máxima reducción en porcentaje de semilla dura en alfalfa y el trébol rojo. La semilla dura del trébol dulce no responde igual. como semilla dura de alfalfa y trébol rojo al calor.

Rodriguez et al., (1985). Realizaron la investigación: *Evaluación de diferentes métodos prácticos de escarificación en semillas de leucaena leucocephala Lam, en condiciones de trópico semiseco – México*. El objetivo fue determinar la germinación de semillas de leucocephala Lam, en condiciones de trópico semi – seco. Los tratamientos consistieron en sumergir las semillas a diferentes temperaturas (T°). T1: semilla sin tratar; T2: semilla remojada por 24 horas agua corriente; T3: semilla remojada por 48. horas en agua corriente; T4: semilla inmersa en agua caliente a una T° de 80°C por 3 minutos; T5: semilla Inmersa en agua a una T° de 60°C durante 5 minutos; T6: semilla remojada por 172 horas en agua corriente. Obtenido los siguientes resultados, que el mejor porcentaje de germinación ($P < 0,05$) correspondió a T4 en relación a los tratamientos T1, T2, T3, T5, y T6. El porcentaje de germinación para los tratamientos T1, T3 Y T6 fue similar en el experimento. La germinación final fue 94, 59, 35, 34, 33 y 33% para los tratamientos T4, T5, T2, T6, T1 y T3, respectivamente. Y concluyeron que el empleo de agua caliente a 80°C por 3 minutos permitió a los 12 días obtener una germinación de 92%, lo cual en ciertas condiciones es conveniente para un buen establecimiento del cultivo. El uso del agua a temperatura ambiental no incrementó el porcentaje de germinación con respecto al testigo.

Hall et al., (1997). Realizaron la investigación: *Pruebas de germinación de semillas de alfalfa y establecimiento de rodales: El papel de la semilla dura (impermeable al agua) – Canadá*. El objetivo fue determinar el efecto de diferentes métodos de escarificación sobre la germinación de

semilla de alfalfa. Se realizaron experimentos de laboratorio para determinar el efecto de la temperatura, la iluminación (luz, sombra, oscuridad) y los medios de comunicación (en papel secante, en el suelo) sobre la germinación de semillas duras. Se eligieron semillas de 4 cultivares para este experimento. Las submuestras de los cuatro cultivares fueron congeladas y escarificadas (Stout 1990) en abril de 1992. Este tratamiento involucró cinco ciclos de congelación y descongelación, de 2 h a -80°C en un Ultra Low Bio Congelador (Forma Scientific, Marietta, OH), luego 2 h mínimo a 35°C . Obteniendo los siguientes resultados, que hubo diferencias entre cultivares en la proporción de semilla de alfalfa viable que era dura, semillas viables de apica y barrier contenía 35 y 32% de semilla dura, respectivamente; mientras que viable las semillas de Apollo II y WL316 contenían 1% menos de semillas duras. Siendo los porcentajes de germinación de 53,00% para la variedad apica a una temperatura de 35°C y 68,00% para barrier. Y concluyeron que las diferencias entre los medios de germinación y los tratamientos de iluminación fueron pequeñas. La escarificación posiblemente tenga algún efecto negativo en la fracción de germinación rápida de la semilla en el campo, pero el efecto neto para cultivares con un alto contenido de semilla dura aparece positivo. Algunas semillas identificadas como duras en una prueba de 7 días a una constante de 20°C probablemente germinen y contribuir a una posición de alfalfa en el campo cuando las temperaturas del suelo son más altas.

Herranz et al., (1998). Realizaron la investigación: *Influencia del calor sobre la germinación de semillas de siete especies de leguminosas mediterránea – España*. El objetivo fue de conocer la respuesta de las semillas a los incendios silvestres y las posibles implicaciones en su regeneración después de esta perturbación. Las semillas se calientan a una gama de temperaturas (50 -150 C) y tiempos de exposición (1-60 min) similares a los registrados en las capas superiores del suelo durante los incendios salvajes. Las pruebas de germinación se realizaron en placas Petri de plástico

de más de 60 días. Obteniendo los siguientes resultados, que la germinación final se incrementó en todas las especies estudiadas, excepto para *Scorpiurus muricatus*. El tratamiento térmico previo de 50°C, sin embargo, no fue eficaz para la germinación de cualquier especie, y el aumento de la temperatura a 70°C ayuda ligeramente mejorando la germinación en *patens Cytisus*. Los *preheatings* de 90°C (5 y 10 min), 120°C (5 y 10 min), y 150°C (1 min) fueron los más eficaces en la promoción de la germinación de semillas. La escarificación con agua caliente (100°C) también aumentó el nivel de germinación final en todos los tratamientos, a excepción de *C. patens*. Y concluyeron que las tasas de germinación después del precalentamiento eran mucho más bajas que en las semillas que fueron mecánicamente escarificadas y estrechamente parecido a los de las semillas no tratadas, a excepción de *C. reverchonii*, cuya tasa de germinación de la semilla reduce con el calor.

Rutar et al., (2001). Realizaron la investigación: *Efecto de la temperatura sobre la germinación de la semilla dura de alfalfa – Croacia*. El objetivo fue averiguar la influencia de diferentes tratamientos de temperatura en la reducción del porcentaje de semillas duras en tres variedades de alfalfa (Osjecka 10, Osjecka 88 y Slavonka). (i) la semilla de control no se sometió al tratamiento (K); (ii) la semilla se expuso a un tratamiento de enfriamiento durante 5 días a 7°C (PH); (iii) la semilla fue expuesta a una temperatura de 40°C durante 5 horas (40); (iv) la semilla se expuso primero a una temperatura de -80°C durante 2 horas y luego a la temperatura ambiente durante 2 horas (-80) y (v) la semilla se expuso a una temperatura de 80°C durante 1 hora (80). Obteniendo los siguientes resultados, que la energía germinativa más alta se logró con las tres variedades mediante el procedimiento de congelación de semillas a -80°C, con el 74,75%; 80,25% y 73,25% para OS-10 OS-88 Slavonka respectivamente mientras que la más baja con el procedimiento a 80°C, especialmente en la variedad Slavonka (1,75%). Las diferencias fueron estadísticamente

justificables. La temperatura de -80°C obtuvo la mayor germinación de semillas sin semillas duras y la más baja se logró con la temperatura de 80°C , especialmente en la variedad Slavonka (2%). Las diferencias fueron estadísticamente justificables-La proporción de semillas muertas fue la más baja en la variante no tratada que osciló entre 0,50 y 3,50% mientras que la más alta, la proporción de semillas muertas se encontraba en la variante tratada por la temperatura de 80°C que oscila entre 30,75 y 71,50%. Y concluyeron que la reducción de semillas duras debido al tratamiento de semillas a -80°C fue de 91,9% en la variedad Osjecka 88,86% en Osjecka 10 y 80,4% en Slavonka. La energía germinativa y la propia germinación libre de semillas duras fueron aumentado por este procedimiento. La energía germinativa, dependiendo de una variedad, osciló entre 73,25% (Slavonka) al 80,25% (Osjecka 88) mientras que la germinación libre de semillas duras ascendió al 82,0% en Slavonka y 89,0% en Osjecka 88.

McDonald (2002). Realizó la investigación: *La germinación respuesta a la temperatura en zonas tropicales y subtropicales leguminosas forrajeras. 1. Temperatura constante – Australia*. El objetivo fue encontrar la respuesta de la germinación de 13 leguminosas tropicales y subtropicales prometedoras y usados comúnmente en el norte de Australia se puso a prueba en el laboratorio a 10 temperaturas constantes de entre 8 y 44°C . Obteniendo los siguientes resultados, el porcentaje de germinación total para la mayoría de las especies fue alta a temperaturas de 16 a 36°C . No hubo germinación a 8 o 44°C para cualquier especie. La temperatura óptima para tasa de germinación varió de 24°C durante *G. latifolia* hasta 36°C durante *bracteatum Macroptilium*. *Leucaena leucocephala* mostró una gama de 12 grados ($24-36^{\circ}\text{C}$) de temperaturas óptimas para la tasa de germinación, pero la mayoría de las especies tenían una gama de 4 – 8°C . Y concluyó que la capacidad de germinar en una amplia gama de temperaturas indica que las especies se adaptan bien

a norte de Australia. La consideración de estas respuestas podría ser útil en la selección de especies o variedades de futuros.

Travlos y Economou (2006). Realizarón la investigación: *Optimización de la germinación de semillas y la aparición de plántulas de Medicago arborea L. – Grecia*. Se llevaron a cabo experimentos de laboratorio e invernadero en Atenas, con el fin de investigar el comportamiento de germinación de las semillas no tratadas y las semillas sometidas a varios pretratamientos y la posterior aparición de las plántulas. los tratamientos en germinación de semillas se evaluaron (1) inmersión en agua caliente 100°C durante 1 min; (2) inmersión en agua caliente 100°C durante 2 min; (3) inmersión en agua caliente en 100°C durante 4 minutos y (4) inmersión en agua caliente (100°C) durante 8 minutos. Los porcentajes de germinación, emergencia y el resto de los datos sin procesar se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) utilizando el paquete de software estadístico Statgraphics (v.5.0, Statistical Graphics Corporation, Englewood Cliffs, NJ, USA). La comparación de la media se realizó mediante el método de la diferencia menos significativa (LSD) de Fisher ($p < 0,05$). Obteniendo los siguientes resultados, que la inmersión en agua caliente durante un mínimo de tiempo aumentó significativamente la germinación de las semillas de M. arborea a comparación con el grupo control que fue de 71% de germinación, además, la inmersión en agua caliente durante 1, 2 y 8 minutos también resultó en porcentajes de germinación significativamente más altos que las semillas no tratadas. La tasa de germinación de las semillas después de una inmersión en agua caliente durante 4 minutos con el 85% (y en segundo lugar durante 2 y 8 minutos) se incrementó considerablemente con 80% y 72% de germinación respectivamente, Y concluyeron que la velocidad y el porcentaje de germinación de semillas y la emergencia de plántulas aumentaron considerablemente con algunos tratamientos, incluida la

inmersión en agua caliente (especialmente durante 4 minutos) mientras que las semillas no tratadas (es decir, control) tuvieron porcentajes de germinación y emergencia relativamente moderados.

Sánchez y Ramírez (2006). Realizaron la investigación: *Tratamientos pregerminativos en semillas de Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. y Prosopis juliflora (Sw.) DC – Venezuela*. El objetivo fue de evaluar el efecto de tratamientos pregerminativos en la germinación y las características morfológicas de las dos especies en *leucaena*, los tratamientos consistieron sumergir las semillas por 10 min en agua caliente (80°C), 2 horas de remojo a 25°C, así mismo se realizó una escarificación con lija # 80 por 20 y 40 min, y un testigo, con cuatro repeticiones por tratamiento. Obteniendo los siguientes resultados, que el mejor tratamiento fue el de 80°C en 10 min con el 91,5% de germinación. La tasa de germinación varió de 12,82 a 14,88 días. Se encontró correlación positiva ($P < 0,01$) en AP, LR, DR, DT y NH, a excepción de DR con AP y LR. Se encontró relación positiva en la AP con LR y NH, de la LR con el NH y del DR con DT. Los tratamientos pregerminativos incrementaron la germinación en semillas de *leucaena*. Y concluyeron que los tratamientos pregerminativos incrementaron la germinación de semillas de *leucaena*, cuando las semillas de *leucaena* se sumergieron durante 10 min en agua caliente a 80°C (91,5%) y al sembrar las semillas de cujís frescas con el artejo.

Oliveira et al., (2007). Realizaron la investigación: *Evaluación de un método de escarificación mecánica en la germinación de semillas de leguminosas pratenses – España*. El objetivo fue determinar el método de escarificación mecánica para eliminar las cubiertas duras de las semillas en los ensayos de germinación. El tratamiento consistió en evaluar el efecto de la inyección de aire comprimido en un escarificador mecánico, lija gruesa por dentro de un metal durante tres tiempos (30, 60 y 120 segundos). Obteniendo los siguientes resultados, existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el porcentaje de germinación entre el testigo y los tratamientos de escarificación; sin

embargo, entre los tratamientos no hay diferencias significativas ($p > 0,05$). Por otra parte, se evaluaron 19 accesiones conservadas de leguminosas anuales (*Medicago sp.* y *Melilotus sp.*) con la inyección de aire comprimido en el escarificador por un periodo de 30 segundos, mostrándose que este tratamiento mejoro la germinación accesiones conservadas. Y concluyeron que la utilización del método de escarificación (papel de lija e inyección de aire a presión) produjo cambios en la dureza de las semillas, influyendo significativamente sobre el porcentaje de germinación, no observándose diferencias significativas entre los diferentes tiempos de inyección de aire a presión.

Baskin et al., (2007). Realizaron la investigación: *inactividad física en semillas de Dodonaea viscosa (Sapindales, Sapindaceae) desde Hawái – EE.UU.* El objetivo fue evaluar el efecto del calor seco en la germinación de semilla de *Dodonaea viscosa (Sapindales, Sapindaceae)*, las semillas mecánicamente escarificadas embebieron agua y se germinaron a altos porcentajes sobre una amplia gama de regímenes de temperatura tanto en luz blanca y la oscuridad, mientras que las semillas no escarificadas no absorben agua pero si calor seco a 80 – 160°C y la inmersión en agua hirviendo durante 1 – 60 min también se rompió la latencia en un alto porcentaje de las semillas, y continua la luz roja lejana no fue inhibidora de la germinación. Sin embargo, el almacenamiento en seco en el laboratorio durante 1 año no supera la latencia. Obteniendo los siguientes resultados, que las semillas que se calentaron durante 60 minutos para las semillas en seco con calefacción en el rango de 80 -160°C, el tiempo de calentamiento óptimo para romper la latencia disminuyó con el aumento de la temperatura. Por lo tanto, los mayores porcentajes de germinación fueron las siguientes: 60 min a 80° C (100%); 15 y 30 min a 100°C (93 y 83%, respectivamente); 5 y 15 min a 120°C (91 y 83%, respectivamente); 5 min a 140°C (93%); y 1 min a 160°C (97%). Por otra parte, las semillas sobrevivieron más tiempo a menor temperatura. Por lo tanto, mientras que el

100% de las semillas sobrevivió a una exposición de 60 min a 80°C, todas las semillas fueron asesinadas por una exposición de 60 min a 140 o 160°C. Además, mayoría de las semillas fueron asesinadas por una exposición de 30 min a 140°C y por una exposición de 5 min a 160°C. Y concluyeron que la germinación de las semillas fue mayores a más tiempo de inmersión, pero a temperaturas bajas, mientras que la exposición de las semillas a mayores tiempos de inmersión y temperatura todas las semillas fueron asesinadas.

Pérez (2007). Realizó la investigación: *Germinación de semillas de Mimosa aculeaticarpa variedad Biuncifera (Benth) Barneby (Fabaceae) – México*. Cuyo objetivo fue determinar las condiciones idóneas para la germinación de mimosa aculeaticarpa bajo los efectos de escarificación mecánica, la temperatura, la luz, así como la presencia de brúquidos que atacan sus semillas. Obteniendo los siguientes resultados, que hay diferencias estadísticamente significativas entre semillas con y sin escarificación ($X^2 = 54,5$ $P < 0,01$). El mejor tratamiento en el cual se obtuvo el mejor porcentaje de germinación fue a 30°C sin luz con el 72%. La temperatura fue un factor significativo ($X^2 = 14,8$ $P = 0,002$), donde a 30°C se obtuvieron los porcentajes más altos. Las semillas que mostraron daño por brúquidos no germinaron. Y concluyó que la *Mimosa aculeaticarpa* variedad *Biuncifera* requieren una escarificación mecánicamente para que germinen, la germinación más alta ocurrió a 30°C con semillas escarificadas y sin luz, del mismo modo la germinación de las semillas inicia a los 3 primeros días a temperaturas altas, mientras que a menor temperatura inicia posteriormente. Las semillas de *Mimosa aculeaticarpa* variedad *Biuncifera* no son fotoblásticas, ninguna de las semillas con daño aparente por brúquidos germinó bajo diferentes tratamientos, además se reconocieron en total cuatro especies de brúquidos: *Acanthoscelides speciosus*, *A. mexicanus*, *A. chiricahuae* y *Stator pruininus*.

Mendoza (2007). Realizó la investigación: *Evaluación de las condiciones requeridas para la germinación y métodos de interrupción de dormancia en semillas de Echinochloa colona (L.) Link, para su posible manejo ecológico – Nicaragua*. El objetivo fue evaluar las condiciones requeridas para su germinación y el efecto de diferentes métodos de interrupción de dormancia; El estudio se realizó en dos fases: En la primera fase se realizaron: pruebas de viabilidad, determinación del contenido de Humedad (según ISTA 1996), prueba de germinación y prueba de germinación con semillas previamente secadas a temperatura de $60 \pm 10C$ por 48 horas y $130 \pm 10C$ por 4 horas. En la segunda fase se realizó el ensayo de interrupción de dormancia, para ello se estableció un DCA arreglado en un bifactorial donde se evaluaron nueve tratamientos: Etanol (0,5 M) más luz roja continua, Luz continua, Estratificación más 5 seg. luz, Estratificación más luz continúa, Agua hirviendo, Etanol (0,5 M), Ácido sulfúrico, Escarificación mecánica y un testigo. Los nueve tratamientos fueron sometidos a dos temperaturas ($20 \pm 10C$ y $26 \pm 10C$). Obteniendo los siguientes resultados, que en la primera fase las semillas de *Echinochloa colona (L.) Link* mostraron una viabilidad promedio de 92%, en las pruebas de germinación no se observó respuesta. En la segunda fase, el análisis de varianza al 99% de confianza, para las variables Porcentaje y Tasa de Germinación, mostró efectos solamente entre los tratamientos evaluados; la separación de medias por Duncan ($\sigma = 0,05$) muestra que los mejores tratamientos que liberan de la dormancia a esta especie son: Etanol (0.5 M) más luz roja continua y Luz continua. Y concluyó que la respuesta de las semillas de *Echinochloa colona (L.) Link* a los tratamientos de interrupción de dormancia con luz, determinaron que las semillas de esta especie son fotoblásticas o fotolantes, además sugiere que la luz es un factor importante para la germinación de esta especie.

Rostami y Shasavar (2009). Realizarón la investigación: *Efectos de la escarificación de semillas en la germinación de semillas y el crecimiento temprano de las plántulas de olivo – Iran*. El

objetivo fue evaluar los efectos de los tratamientos de escarificación químicos y mecánicos sobre el porcentaje y la tasa de germinación de semillas de cultivares de oliva (*Arbequina* y *Koronaiki*). Después de la extracción de las semillas, se sumergieron en una solución de NaOH al 2% durante 30 minutos para eliminar los aceites. Para la escarificación química: semillas de oliva empapadas en ácido sulfúrico al 97% durante 0, 3, 6 y 9 horas a 25°C. El tratamiento de escarificación mecánica se llevó a cabo girando el mango del instrumento, hasta que las endocarpos duras se volvieron delgadas y brillantes, pero no perforadas. Las semillas se colocaron en agua corriente durante 12 h y luego se esterilizaron en la superficie en un 10% de Clorox durante 15 min, después de los tratamientos de escarificación. Los datos fueron analizados por SPSS v 16,0 (SPSS Inc.) para el software de Windows. Medios separados por la prueba HSD de Tukey a ($p < 0,05$). Obteniendo los siguientes resultados, que los tratamientos de escarificación químicos y mecánicos seguidos de un período de estratificación adecuado pueden aumentar la germinación de las semillas de manera significativa. Los tratamientos de escarificación química eliminaron las semillas alrededor de la estructura más uniforme. La menor tasa de germinación y el porcentaje se observaron en los tratamientos de control. El mayor porcentaje de germinación de *cv Koronaki*, se obtuvo después de 91% de tratamientos con solución de ácido sulfúrico durante 6 h (hasta 73%). Tratando las semillas de este cultivar con 97% de ácido sulfúrico durante mucho tiempo después de estos tratamientos. El mejor resultado para *cv Arbequina* se observó después del 97%. El tratamiento con ácido durante 9 h (69%), el tratamiento mecánico no tuvo efecto en el porcentaje de germinación ni en la tasa de germinación de las semillas de este cultivar. Y concluyeron que el crecimiento de las plantas de olivo también se incrementó significativamente con los tratamientos de escarificación. El crecimiento de las plántulas en los cultivos de olivo fue un período de deterioro del embrión y no se produjeron plántulas.

Alderete et al., (2010). Realizaron la investigación: *Efecto de diferentes tratamientos de escarificación en la germinación de semillas de (Lupinus leptophyllus) – México*. El objetivo fue determinar la efectividad de los tratamientos de escarificación en la germinación de *Lupinus leptophyllus* Schlecht y Cham; Se tomó en consideración un régimen de día / noche de 25/15°C junto con un fotoperíodo de 12 h. Tratamiento térmico a temperatura ambiente 18°C (control), 80, 110 y 140°C a diferentes tiempos de exposición de 0 (control), 1, 2 y 5 min. Se sembraron en cada unidad experimental (placas de Petri), con 6 repeticiones para cada tratamiento. El diseño experimental utilizado fue bloques completamente al azar con seis repeticiones. El programa SAS (2003) (v. 2003) para microcomputadoras, se empleó para realizar las pruebas ANOVA (Proc Mixed) y comparaciones de medias (diferencia mínima significativa), también con el programa SAS. Obteniendo los siguientes resultados, que todos los tratamientos aplicados fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$). Las radículas de *L. leptophyllus* comenzaron a emerger dos días después del establecimiento del experimento. Las semillas sometidas a tratamientos de temperatura a 80, 110 y 140°C durante uno, dos y 5 minutos, presentaron los siguientes resultados. A 80°C, todos los tratamientos no respondieron positivamente con resultados más pobres que el control (temperatura ambiente 18°C), por lo que este tratamiento no parece ser suficiente para estimular la germinación. Todos los otros tratamientos fueron eficientes, pero los mejores fueron los tratamientos a 140°C y 110°C con dos minutos de exposición, que tuvieron el mayor porcentaje de germinación con 35,4% y 32%, respectivamente. Aquellos porcentajes de germinación fueron más altos que el control, que tuvieron 15,4% de germinación. Y concluyeron que los tratamientos térmicos con 140°C y 110°C durante dos minutos dieron los mejores resultados con una germinación de 35,4% y 32%. Se recomienda el uso de estos tratamientos para la escarificación de semillas a los efectos de la recolonización en áreas forestales después de un incendio.

Olisa et al., (2010). Realizaron la investigación: *Imbibición y respuesta de guisantes (Cajanus cajan L. Mill sp.) Y frijol ñame africano (Sphenostylis stenocarpa (Hochst. Ex A. Rich) perjudican las semillas a la escarificación – Nigeria*. Este estudio tuvo como objetivo aclarar el papel que desempeña el proceso de imbibición para causar una mala formación de semillas de dos leguminosas poco utilizadas y si la escarificación podría mejorar el porcentaje de germinación. Se colocaron veinte semillas individuales en posiciones numeradas en una bandeja de germinación y se usaron para monitorear el proceso de imbibición. De manera similar, otro conjunto de semillas se usó para pruebas de germinación estándar en arena húmeda como control para las semillas escarificadas que se probaron tanto en sustratos de arena como de papel. Obteniendo los siguientes resultados, en el sustrato de arena, las semillas escarificadas bebieron significativamente ($p < 0,05$) más agua en comparación con las semillas intactas en ambas especies. El aumento en el peso de las semillas escarificadas como resultado de la imbibición en el sustrato de papel fue significativamente menor que en el sustrato de arena, en un 52,32% en paloma y 20,05% en frijol ñame africano. Sin embargo, en relación con las semillas intactas, el porcentaje de germinación de semillas escarificadas se redujo respectivamente por 13,86% y 29,70%. Y concluyeron que hubo interacción de los cultivares con los sustratos y la germinación de NSWSCC32 fue comparable en los tres tratamientos y tanto para los cultivares individuales como para todos los cultivares, las tendencias para las semillas de frijol ñame africano fueron similares a las de las palomitas.

Pipinis et al., (2010). Realizaron la investigación: *Efecto de la escarificación con ácido y la estratificación húmeda fría en la germinación de Cercis siliquastrum L. semillas – Grecia*. El objetivo fue evaluar los efectos de la escarificación con ácido, la estratificación húmeda fría, y la combinación de ambos en romper la latencia y la mejora de la germinación de semillas. Las semillas fueron escarificadas con concentrado (95% - 97%) de ácido sulfúrico durante diversos

tiempos (0, 20, 40, y 60 min), seguido de estratificación húmeda fría durante 0, 1, 2, 3, o 4 meses. semillas escarificadas no germinaron si fueron estratificados (hasta 4 meses) o no. Del mismo modo, las semillas que fueron escarificadas (20, 40, y 60 min) y luego estratificada para 0 o 1 mes no germinaron o exhibieron porcentajes muy bajos de germinación. Obteniendo los siguientes resultados, que la interacción entre la escarificación ácido y tratamientos de estratificación en frío afectada significativamente la germinación de semillas. En particular, después de un período de 2 meses de estratificación fría, el aumento de la duración de escarificación (20 a 60 min) también aumentó los porcentajes de germinación (31% a 65%). porcentajes de alta germinación igual a 94%, 88% y 98% se alcanzaron después de un período de 3 meses de estratificación en frío de las semillas que habían sido escarificada para 20, 40, y 60 min, respectivamente. Períodos más largos de estratificación (4 meses) de las semillas escarificadas para 20, 40, y 60 min reducen los porcentajes de germinación (81%, 68%, y 59%, respectivamente). Esta disminución fue mayor en semillas que fueron escarificadas durante 60 min. Períodos más largos de estratificación (4 meses) de las semillas escarificadas para 20, 40, y 60 min reducen los porcentajes de germinación (81%, 68%, y 59%, respectivamente). Y concluyeron que la germinación de las semillas *C. siliquastrum* sólo se pueden lograr por medio de escarificación seguido de tratamiento estratificación húmeda frío. La duración del período de CS (más de 1 mes) determina la duración de la inmersión en ácido sulfúrico que se requiere para la germinación máximo semilla.

Contreras (2012). Realizó la investigación: *Germinación de semillas de especies nativas de los pastizales del altiplano del norte de México*. El objetivo fue determinar porcentaje y velocidad de germinación (t50), así como clasificación de semillas de especies nativas de los pastizales del Altiplano. Se evaluaron: i) semillas con escarificación mecánica y ii) semillas sin escarificar. Se expusieron a 2 niveles de temperatura: 26° y 30° C en germinadora, aplicando fungicida y sin

fungicida, dando un total de ocho tratamientos, con cinco repeticiones cada uno y humedad constante. Obteniendo los siguientes resultados, que la *Frankenia gypsophila* presentó mayor porcentaje de germinación a 26°C, mientras que *Machaeranthera pinnatifida* a 30°C, el resto de las especies no presentó diferencias. *Sartwellia mexicana* tuvo un mayor porcentaje de germinación sin fungicida, mientras que no hubo diferencia para las demás especies. La escarificación aumentó el porcentaje de germinación en *Machaeranthera pinnatifida* y *Atriplex canescens*; sin embargo, redujo la de *Frankenia gypsophila*. De la clasificación de germinabilidad las que predominaron correspondieron a la categoría baja: *Sartwellia mexicana*, *Machaeranthera pinnatifida* y *Atriplex canescens*, categoría alta: *Frankenia gypsophila* y *Muhlenbergia arenicola*; mientras que las velocidades de germinación fueron rápidas en: *Frankenia gypsophila* y *Muhlenbergia arenicola*, y media en: *Sartwellia mexicana* y *Atriplex canescens*. La especie *Muhlenbergia arenicola* germinó más rápido que las demás ($2,5\pm 0,51$ a 26°C y $2,35\pm 0,34$ a 30°C), sin embargo, para esta y las demás especies no hubo diferencia en la velocidad de la germinación entre las temperaturas. Y concluyó que la *Machaeranthera pinnatifida* presentó mayor porcentaje de germinación a 30°C y *Frankenia gypsophila* a 26°C; las demás especies no mostraron diferencias en su germinación en función de la temperatura.

Guerra y Montoya (2013). Realizaron la investigación: *Evaluación de la capacidad de germinación de la semilla del abarco (cariniana pyriformis) en la subregión del Urabá - Colombia*. El objetivo fue evaluar la capacidad de germinación de la semilla Abarco (*carinianapiriformis*) en 3 sustratos y un testigo que se compone de la siguiente manera: Sustrato 1 (Arena río + cisco de arroz 3:1) Sustrato 2 (Tierra + cisco de arroz 3:1); Sustrato 3 (Arena de río-testigo); Sustrato 4 (Tierra). Se construyeron un total de cuatro (4) camas de germinación en madera reciclada con una dimensión de 50 cm x 75 cm y una profundidad de 10 cm. Estas se

dividieron en 4 cuadrantes iguales con unas dimensiones de 25 cm x 37 en los cuales se sembraron 25 semillas de la especie abarco (*cariniana pyriformis*) lo que indica que cada cama de germinación tuvo un total de 100 semillas. Obteniendo los siguientes resultados, que la potencia germinativa de semillas de abarco determinadas en todos los tratamientos utilizados fue 58,7% respectivamente. Y concluyeron que se puede determinar que el sustrato Arena (testigo) presento el mayor porcentaje de germinación con un 90%, observando en este, un crecimiento acelerado de 54 plántulas a partir de la tercera semana de siembra. En los tratamientos 2 (tierra+Cisco de arroz) y tratamiento 4 (tierra) se evidencio una compactación que dificulto la germinación de las semillas; no obstante, el tratamiento 2 que se adiciono cisco de arroz para aumentar la aireación de la textura, presento cierta similitud en cuanto al bajo crecimiento de las plántulas con respecto al tratamiento 4 (tierra).

Robert et al., (2014). Realizaron la investigación: *Respuesta de germinación de semillas de legumbres sujetas humo y calor seco – USA*. El objetivo fue determinar el efecto de calor seco (45 – 80°C) en la germinación de semillas de 18 especies de leguminosas. Obteniendo el siguiente resultado: el calor húmedo incrementó la germinación en ocho especies y dos variedades, y el calor seco Incremento de la germinación en siete especies y dos variedades.

Charuc (2016). Realizó la investigación: *Evaluación de los métodos de escarificación en semillas de pacaína (chamaedorea sp); Chimaltenango – Guatemala*. El objetivo fue la identificación del efecto de los métodos de escarificación en el proceso de germinación en las semillas de pacaina. Se evaluaron los métodos de escarificación física, química y mecánica. La escarificación física consistió en sumergir las semillas en agua fría durante 5, 10, 15 y 20 días y en agua caliente durante un minuto. La escarificación química consistió en sumergir las semillas en ácido sulfúrico al 5% y 10% durante un minuto. La escarificación mecánica consistió en golpear las semillas con un

martillo tratando de romper la testa. Obteniendo los siguientes resultados, que en los registros de germinación indican que el porcentaje mayor es de 77,83% que corresponde al tratamiento con agua fría durante 15 días, seguido del tratamiento con escarificación mecánica por golpe con martillo con un 77,17% comparado con el testigo absoluto que obtuvo un 5,67% de germinación. Y concluyó que los mejores resultados para incrementar la cantidad de semillas germinadas se obtuvieron con el tratamiento que consistió en sumergir las semillas en agua fría durante 15 días y el tratamiento que consistió en la escarificación por golpe con martillo. El tratamiento que consistió en sumergir las semillas en agua fría durante 20 días es el mejor método de escarificación para disminuir el tiempo de germinación.

Montilla et al., (2017). Realizarón la investigación: *Tratamientos pregerminativos en semillas de moringa y su efecto en variables agronómicas, (Venezuela)*. con el objetivo de evaluar en semillas de Moringa oleifera Lamarck procedencia Supergenius el efecto de diferentes tiempos de hidratación (TH): 3 horas (T1), 6 horas (T2), 12 horas (T3) y 24 horas (T4), sobre la germinación (G), la altura de planta (A) y la velocidad de crecimiento (C) a los 5, 7, 9, 12 y 14 días después de la siembra (DDS); así como su efecto sobre el peso de follaje (PF), el peso de las raíces (PR), el promedio del peso diario del follaje (PPF) y del peso total de la planta (PPT) a los 14 DDS. Obteniendo los siguientes resultados que solo permitieron detectar diferencias significativas para la germinación (a los 5 DDS), y para la A y la C (a los 6 y 12 DDS). La hidratación de las semillas de M. oleifera durante 12 o 24 horas puede contribuir a mejorar el desempeño de las variables de desarrollo de esta especie. Por otra parte, el PR y el PF contribuyeron en un 14 y 86 %, respectivamente, en el peso total de las plántulas a los 14 DDS, lo que indica que esta planta puede ser muy eficiente para la producción de forraje durante su etapa inicial de crecimiento.

Stanisavljevic et al., (2018). Realizaron la investigación: *La aplicación de los tratamientos de temperatura antes que las opciones de siembra mejorar la calidad de la alfalfa – Serbia*. El objetivo fue aplicar tratamientos de temperatura a la semilla de alfalfa tres cultivares y un experimento de dos años, con énfasis en los métodos óptimos de reducción de semillas duras y el aumento de la germinación de semillas. En ambos años, en el momento de la siembra de otoño (septiembre), la muestra de semillas se expuso a tres temperaturas ($T = 70^{\circ}\text{C}$, 80°C , y 90°C) a tiempos de exposición de 10, 30, 60, y 90 minutos. Para la germinación de las semillas se examinó utilizando el papel de filtro con cuatro repeticiones (ISTA 2016). Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA, F test). Se aplicó la prueba de Tukey para establecer la diferencia entre los tratamientos aplicados. Obteniendo los siguientes resultados, que en el primer experimento (2016) que implica la variedad “Banat”, el tratamiento óptimo que aumento la germinación fue de 80°C durante 60 minutos con el 94,00%. Además, se encontró un incremento en la germinación de la variedad 'Median', con el tratamiento de 80°C durante 90 minutos y 90°C durante 60 en ambos casos con el 95,00%. La germinación 'ON-83' alcanzo una germinación de 93,00% para los tratamientos de 80°C durante 60 minutos y 90°C durante 30 minutos. Los tratamientos de 90°C durante períodos prolongados (90 minutos y 60) tuvo el impacto más fuerte en la reducción de semillas duras (2% y 5% para diferentes cultivares). Y concluyeron que hay se pueden lograr una disminución en la cantidad de semillas duras y un incremento en la germinación aplicando la escarificación física daño a la cubierta de la semilla, agua caliente, enfriamiento, etc. Además, los resultados obtenidos indican que el incremento en la germinación puede ser significativa ($p < 0,05$) siempre que se aplica la temperatura de los tratamientos de semillas.

2.1.2. A nivel nacional

Bravo (2014). Realizó la investigación: *Germinación de semilla botánica de terminalia amazonia (j. F. Gmel.) Exell, utilizando cinco tratamientos Pregerminativos – Perú*. El objetivo fue de contribuir con los mecanismos de propagación de esta especie se realizó ensayos de germinación aplicando cinco tratamientos pregerminativos a sus semillas. Obteniendo los siguientes resultados, que el porcentaje de germinación de los 05 tratamientos pre germinativos (KN03: 1000 y 2000 ppm, AG3: 1000 y 2000 ppm, enzima celulasa) no mostraron germinación alguna (0%). Ante la respuesta negativa, se optó por realizar coloraciones y observaciones microscópicas, determinando la ausencia de tejido embrionario; aprobándose así la Hipótesis nula. Del inventario realizado se determinó que Terminalia amazonia en etapa reproductiva en el ámbito de estudio, se encuentra a distancias que oscilan de 1 a 3 km, y la ausencia de especímenes en la etapa de brinzal y latizal, determinando el no suministro de polen suficiente y de manera reincidente. Por lo que *T. amazonia* no se reproduce sexualmente, recomendándose la propagación asexual mediante acodos aéreos. Y concluyó que los tratamientos aplicados en semillas de Terminalia amazonia provenientes de árboles reproductores del distrito de Huarango - San Ignacio, no mostraron resultados, ya que las semillas son vanas a causa de la ausencia del tejido embrionario.

2.1.3. A nivel local

Hinojosa y Vásquez (2015). Realizaron la investigación: *Influencia del número de horas de remojo sobre la tasa de germinación de semillas nativas de avena y cebada, mediante el cultivo hidropónico – Lircay*. El objetivo evaluar la tasa de germinación de semillas de avena y cebada nativas de Lircay, para determinar en qué medida el número de horas de remojo

influye sobre dicha tasa de germinación. Las semillas de ambas especies fueron sometidas a tratamientos de remojo de 0, 12 y 24 horas para inducir su germinación. Se utilizaron 250 gramos de semilla por bandeja de germinación hidropónica y 6 réplicas por cada tratamiento. Obteniendo los siguientes resultados, que el porcentaje de germinación acumulado al sexto día fue de 78,2% para la cebada y 40,8% para la avena. El porcentaje de germinación de la avena fue de 33,7%, 50,6% y 38,0% para 0, 12 y 24 horas de remojo respectivamente, mientras que para la cebada fue de 87,0%, 81,6% y 66,0% para 0, 12 y 24 horas de remojo respectivamente. El porcentaje de germinación para la avena fue de 5,0%, 19,7% y 16,1% para 2, 4 y 6 días de evaluación respectivamente, mientras que el porcentaje de germinación de la cebada fue de 13,0%, 43,2% y 22,1% para 2, 4 y 6 días de evaluación respectivamente. Y concluyeron que la cebada muestra una mayor tasa de germinación que la avena, La cebada no necesita humedecimiento previo para inducir su germinación, mientras que la avena si necesita un tratamiento de 12 horas de remojo. Estos resultados indican que las semillas de avena necesitan 12 horas de humedecimiento previo para incentivar la germinación, en cambio las semillas de cebada no muestran necesidad de un tratamiento de remojo.

3.1. Bases teóricas

3.1.1. Escarificación física

La escarificación de la semilla es una técnica que se lleva a cabo con el fin de acortar el tiempo de germinación. Se trata de una abrasión de la pared exterior de la semilla (tegumento) para permitir que el endospermo entre en contacto con el aire y el agua (Pérez, 2008).

La escarificación física juntamente con sus variantes da muy buenos resultados para solucionar los problemas prácticos, en las semillas de pastos (leguminosas y gramíneas), se considera que cambian la viscosidad del protoplasma de las células del embrión, modificando sus características físicas y químicas (Mérola y Diaz, 2012).

Calentamiento moderado

El calentamiento moderado de las semillas "duras" de leguminosas bajo el régimen de temperatura de 30 – 45°C, acelera su germinación, este tratamiento rompe la impermeabilidad del hilio, parecido a lo que sucede cuando la semilla se golpea contra una superficie sólida, no requiere de personal altamente calificado, pero si de un equipamiento especial como estufa o cámara de calefacción (Mérola y Diaz, 2012).

Agua hirviendo

Uno de los métodos bien conocidos de liberar la semilla del estado de latencia es tratarla con agua hirviendo, las semillas de algunas especies como *Medicago sativa*, *Glycine*, *Leucaena* y *Acacia* al pasar un tiempo breve en este ambiente, aumentan su germinación bruscamente. En semillas de forrajeras de los géneros *Leucaena*, *Stylosantes*, *Centrosema*, *Pueraria* y *macroptilium* ha obtenido incrementos en la germinación de 40 a 80 % usando este método (Mérola y Diaz, 2012).

La deficiencia principal de este método consiste en que las semillas tratadas con el agua hirviente, la absorben en cantidades suficientes y germinan en el campo, independientemente de las condiciones meteorológicas y si no llueve o el riego no está garantizado, la siembra puede frustrarse. Inclusive se pueden tratar las semillas recién cosechadas, secarlas y almacenarlas posteriormente (Mérola y Diaz, 2012).

Temperaturas extremas bajas

Existen datos que las temperaturas bajas de -50 hasta -90°C pueden eliminar la latencia de las semillas de las leguminosas. No requiere de personal altamente calificado, pero si de un equipamiento especial como nitrógeno líquido cámaras especiales de frío (Mérola y Diaz, 2012).

Pre refrigeración

Consiste en someter a la semilla a 5 °C durante 7 días y al finalizar la duración del ensayo, las mismas sometidas a ambientes favorables de germinación deben romper la dormancia. No requiere de personal altamente calificado, pero si de un equipamiento especial como heladeras, freezer o cámaras de frío (Mérola y Diaz, 2012).

En conclusión, se aplican a especies de testa dura y/o impermeables, cutinizados que impiden la entrada de agua, modifican la cubierta de la semilla, activan que se hallan en estado de reposo. Abarca la escarificación física con lijas o elementos raspantes, intemperie, aplicación de temperaturas altas, tiempos de remojo golpe de martillo entre otros

Inmersión en agua a diferentes temperaturas.

También llamado activación de las semillas (aplicable a cualquier semilla, como granos de cereales, legumbres, semillas de girasol, semillas forrajeras, etc.) Pero se trata de algo tan sencillo como poner las semillas/frutos secos en agua. Cuando se las remoja, se rompen las defensas naturales de la semilla para que germine más rápido. La semilla necesita cierto grado de humedad para poder desarrollarse. Con la lluvia el proceso puede tardar unos días, pero si las pones en agua, acelerarás la evolución (Padilla, 1995).

El procedimiento consiste en introducir semillas en un recipiente con agua destilada, los métodos de escarificación comprenden tratamientos físicos, como el remojo en agua y soluciones químicas que propician la germinación de las semillas. Todo tratamiento que destruye o reduce la impermeabilidad de la cubierta se denomina escarificación, por eso en algunos casos solo basta con destruir un solo punto de la cubierta para que se produzca la imbibición e intercambio de gases y así se inicie la germinación (ISTA, 1999).

La escarificación con agua a temperatura ambiente consiste en dejar sumergidas las semillas por determinado tiempo; pudiendo tardar horas o días dependiendo de la dureza de la testa. El tratamiento de imbibición de las semillas, es un método sencillo, práctico y económico, que puede ser utilizado para incrementar el porcentaje de germinación en diferentes especies en general, los tratamientos con agua caliente han sido los más favorables, resultandos efectivos, fáciles de aplicar y seguros (Pérez, 2008).

Las semillas son remojadas en agua corriente con la finalidad de remover los inhibidores químicos presentes en la cubierta. Este tratamiento también es empleado con el objetivo de ablandar la testa. El tiempo de remojo puede ser de 12, 24, 48 y hasta 72 h, y en algunos casos, cambiándoles el agua con cierta frecuencia (Patiño et al., 1983; Hartmann y Kester, 1997; FAO, 1991).

Importancia.

Los tratamientos pregerminativos como el remojo en agua de las semillas ofrecen una buena opción y solución para el manejo de semillas sobre todo con semillas de especies de importancia forrajera. Mediante estos se homogenizan y se aumentan los porcentajes de germinación. Esto facilita la manipulación de las semillas, tanto en condición fresca como después

del almacenamiento. Quizá aún no se les ha dado la importancia que merecen, lográndose a través de estos un incremento tanto en la capacidad como en la energía germinativa de la semilla. Con la información presentada en este cuadernillo se ha tratado de brindar el conocimiento necesario para facilitar la manipulación de especies de interés y contribuir con la preservación de las especies nativas (FAO, 1991).

Las semillas a menudo requieren un tratamiento antes de la siembra de modo de acelerar el proceso germinativo y de asegurar una infección adecuada con bacterias nitrificantes. Las semillas de leguminosas forrajeras por lo general presentan una alta proporción de semillas con cubiertas seminales impermeables que no permiten la imbibición y que, por lo tanto, no germinarán cuando son sembradas permaneciendo latentes en el suelo hasta el momento en que la cobertura seminal pierde su impermeabilidad; tales semillas son conocidas como semillas duras. Estas semillas duras deben ser sometidas a un proceso de escarificación como remojos, escarificación química, mecánica y otros (Sánchez, 2006).

Características.

Habitualmente el remojo se efectúa en agua a temperatura ambiente, pero también se han obtenido buenos resultados con agua caliente. En este último caso, las semillas se colocan en agua hirviendo, retirando inmediatamente el recipiente de la fuente de calor y se deja enfriar hasta que alcance la temperatura ambiente (FAO, 1991).

Las semillas se remojan con algunos de los métodos siguientes durante uno o cuatro días, hasta que están hinchados por completo: (a) en agua que corra lentamente, (b) en agua en reposo a menos de 15°C; o (c) en agua en reposo a 20°C haciendo cuando menos dos cambios de agua al día. En la preparación de las semillas para la separación de los embriones resulta satisfactorio

almacenarlas durante tres días a dos semanas en turba húmeda y a temperatura fría. La separación del embrión debe hacerse con todo cuidado para evitar dañarlo. Cuando existan cubiertas duras, como el endocarpio de las semillas de los frutales de hueso, deben quitarse primero (Besnier, 1990).

3.1.2. La semilla

Desde el punto de vista de la Botánica, una semilla verdadera es un embrión como un óvulo fecundado, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal, la cual se encuentra en estado latente, acompañado o no de tejido nutricional y protegido por el epispermo o cubierta (Camacho, 1994).

La semilla es una estructura en reposo, por lo regular esta deshidratada, compuesto principalmente de tejido de reserva y rodeada por una cubierta esencialmente impermeable. Los procesos metabólicos están suspendidos o tienen lugar muy lentamente; la semilla está en condición de vida interrumpida, debido principalmente a su carencia de agua y oxígeno. El proceso de germinación consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento (Moreno, 1996).

Unas cuantas cubiertas seminales son tan impermeables al agua que necesitan condiciones extremas para germinar (Bidwell, 1993). La estructura de las semillas de las latifoliadas es semejante a las coníferas, excepto que todos los tejidos son diploides; las semillas de las coníferas son diploides con excepción del endospermo. El endospermo de las semillas de las latifoliadas se compone principalmente del almidón y los cotiledones no llegan a funcionar como hojas, sino que la semilla en germinación los consume como fuente

de carbohidratos. Otra diferencia notable es que, en el momento de la caída de las semillas de las coníferas tienen un contenido de humedad de aproximadamente 10 %, mientras que las latifoliadas contienen hasta 40 % de humedad (Theodore et al., 1982).

Los recursos de una planta para producir semillas son limitados, así que cierta cantidad de energía disponible para producirlas puede traducirse en un gran número de semillas pequeñas o en un gran número de semillas grandes. La semilla es el principal medio de propagación de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de la vegetación y la sucesión ecológica. También, es de los principales recursos para el manejo agrícola y silvícola, para la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas sobreexplotadas (Vásquez et al., 1997).

3.1.2.1. Alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350

Es una leguminosa forrajera perenne, de crecimiento erecto, con abundantes hojas trifoliadas y ubicadas alternamente en el tallo. Tiene flores de color morado y presenta poca resistencia al frío (crece en invierno). En él se incluye la mayoría de las variedades que se usan en el Perú, estas presentan dos tipos de floración que binen a ser: floración temprana en la cual los tallos son altos y hojas largas mientras que en la floración tardía los son tallos cortos, hojas pequeñas y ralas (Spedding y Diekmahns, 1972).

Características de la alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350

La alfalfa AGP - 350 tiene una dormancia de 3,8; lo que le hace resistente a las sequias y heladas; cuando las condiciones son desfavorables pueden permanecer en el terreno en

descanso hasta por 3 meses, luego brotar cuando las condiciones son favorables, en la sierra este periodo se da entre junio y octubre.

Se ha demostrado que esta alfalfa se desarrolla con excelentes resultados entre los 2,600 y 4200 msnm, sola o en asociación con gramíneas, en terrenos con pH ideal de 5.5 a 6.8 Su cultivo sólo requiere agua de lluvia, con riego rinde mucho más.

El periodo de permanencia en el terreno una vez instalada y con un manejo adecuado es de entre 15 a 20 años y los rendimientos en secano son de 100tm/ha año de follaje verde y con riego 140Tm/ha año de follaje verde.

Es un forraje muy nutritivo, aporta el 24% de proteínas, vitaminas fósforo, potasio, cobre, hierro y nitrógeno, se adapta al pastoreo y a su vez permite elaborar heno, ensilado y harina. El costo de instalación de una hectárea de alfalfa fluctúa entre S/ 2, 000.00 y S/ 2, 500.00 y tiene un porcentaje de germinación mínima para esta variedad es de 85%.

Porcentaje de germinación de semilla de alfalfa.

Según la FAO (2006), la germinación de la alfalfa (*Medicago sativa*) de acuerdo a lo evaluado según las reglas nacionales para semillas es:

Germinación 80 por ciento mínimo.

Semilla pura 98 por ciento mínimo.

Pureza varietal 98 por ciento mínimo.

Para que estos estándares se cumplan deberán ajustarse cada país a las siguientes necesidades locales y controlarlas: contenido de humedad, enfermedades transmitidas por las semillas y malezas nocivas.

2.2.3. Germinación de las semillas

El número producido y su tamaño afectaran la capacidad de sobrevivencia y perpetuación de las especies. Las plantas que producen muchas semillas pequeñas se diseminan más ampliamente y tienen mayores oportunidades de encontrar un sitio favorable para germinar y crecer; sin embargo, su tamaño pequeño aporta poco al crecimiento de la nueva planta y esta depende muy pronto de los recursos disponibles en su medio, por lo que su riesgo de morir es muy alto. También tienen menor resistencia a los efectos de la defoliación por herbívoros y pueden ser aplastadas fácilmente por la hojarasca que cae al suelo, aunque esto se recompensa de alguna manera por el gran número, solo una pequeña fracción sobre vive a todos esos accidentes (Vázquez et al., 1997).

La dispersión de semillas es una de las estrategias de las plantas para evitar ser depredadas o para llegar a sitios adecuados para su germinación. El éxito reproductivo en gran parte depende de la forma y amplitud de dispersión que tengan las especies. La germinación de la semilla es como un fenómeno biológico, que puede interpretarse como la continuación del crecimiento del embrión, el cual ha sido temporalmente interrumpido durante la formación de la semilla. Durante el desarrollo de la germinación intervienen eventos genéticos, metabólicos, anatómicos y bioquímicos (Vázquez et al., 1997).

Básicamente supone la activación metabólica de la semilla hasta que se da origen a una plántula normal. Para mejorar y hacer óptimas las condiciones para la germinación se recurre al uso de tratamientos pregerminativos, las cuales ayudan de una u otra manera al estímulo germinativo bien sea superando barrera físicas o biológicas (Bidwell, 1993). El proceso de germinación se divide en tres etapas consecutivas separadas. Así tenemos:

Etapa 1. Activación

Imbibición del agua: La semilla seca absorbe agua y el contenido de humedad al principio se incrementa con rapidez, luego se estabiliza. La absorción inicial implica la imbibición de agua por coloides de la semilla seca, que suaviza las cubiertas de la misma e hidrata al protoplasma. La semilla se hincha y es posible que se rompan las cubiertas. La imbibición es un fenómeno físico y puede efectuarse aun en semillas muertas. **Síntesis de enzimas:** La actividad de las enzimas empieza muy rápidamente después del inicio de la germinación, a medida que se hidrata la semilla. La activación resulta en parte de la reactivación de enzimas previamente almacenadas que se formaron durante el desarrollo de embrión y en parte de la síntesis de nuevas enzimas al comenzar la germinación (Hartman y kester, 1987).

El desarrollo de la semilla y su germinación representa un sistema biológico en el cual la maquinaria metabólica de las células es "activada" o "suspendida" mediante el control de flujo de información genética del ADN de la célula. Expresada en forma simple el proceso implica dos pasos básicos. Uno de ellos es la transcripción de instrucciones genéticas del ADN para formar moléculas específicas de ARN mensajero (ARNm). El segundo paso consiste en la traducción de esa información por medio de otro grupo de moléculas de ARN de transferencia (ARNt) para sintetizar proteínas específicas (Hartman y kester, 1987).

Esas proteínas son enzimas que controlan las complejas reacciones bioquímicas que intervienen en el metabolismo y el crecimiento. La energía necesaria para esos procesos se obtiene en los enlaces fosfáticos la alta energía del trifosfato de adenosina (A TP) presente en las mitocondrias. **Elongación de células y emergencia de la radícula:** El primer signo visible de germinación es la emergencia de la radícula, la cual resulta de la elongación de las células más bien que de división celular. En una semilla no durmiente, la -emergencia de la radícula puede

ocurrir en unas cuantas horas o en varios días después de la siembra y usualmente se considera que señala el fin de la etapa (Hartman y kester, 1987).

Etapla 2. Digestión y translocación.

En el endospermo, los cotiledones, el perispermo, o en el gametofito femenino (coníferas) se almacenan grasas, proteínas y carbohidratos; estos compuestos son digeridos a sustancias más simples, que son translocadas a los puntos de crecimiento del eje embrionario. Los patrones metabólicos de semillas de diferentes especies difieren con el tipo de reservas químicas de la semilla. Las grasas y los aceites, los principales constituyentes alimenticios de la mayoría de las plantas superiores, son convertidos enzimáticamente a ácidos grasos y al final en azúcares. Las proteínas almacenadas, presentes en la mayoría de las semillas, son una fuente de aminoácidos y de nitrógeno esencial para la planta en crecimiento. El almidón, presente en muchas semillas como una fuente de energía, se convierte en azúcar (Hartman y kester, 1987).

Los patrones metabólicos que ocurren durante la germinación implican la activación de enzimas específicas en la secuencia apropiada y la regulación de su actividad. El control puede ser ejercido dentro de las células por varios procesos bioquímicos y pueden depender de la presencia de sustancias químicas u hormonas. Ahora la absorción de agua y la respiración continúan con una tasa constante. Los sistemas celulares existentes han sido activados y el sistema de síntesis de proteínas está funcionando para producir nuevas enzimas, materiales estructurales, compuestos reguladores y ácidos nucleicos para realizar las funciones de la célula y sintetizar nuevos materiales (Hartman y kester, 1987).

Etapa 3. Crecimiento de la plántula.

El desarrollo de la plántula resulta de la división celular continuada en puntos de crecimiento separado del eje embrionario, seguido por la expansión de las estructuras de la plántula. La iniciación de la división celular de los puntos de crecimiento es independiente de la iniciación de la elongación celular. Una vez que comienza el crecimiento en el eje embrionario, se incrementa el peso fresco y el peso seco de la plántula, pero disminuye el peso total de los tejidos de almacenamiento. La tasa de respiración, medida por la absorción de oxígeno, aumenta constantemente con el progreso del crecimiento. Finalmente, los tejidos de almacenamiento de la semilla dejan de intervenir en las actividades metabólicas, excepto en aquellas plantas en que los cotiledones salen a la superficie del suelo y se vuelven activos en la fotosíntesis. La absorción de agua aumenta en forma constante a medida que las nuevas raíces exploran el medio de germinación y el peso fresco de la plántula aumenta (Hartman y kester, 1987).

Las semillas clasificadas como ortodoxas son aquellas que pueden ser deshidratadas a contenidos bajos de humedad y almacenadas a temperaturas bajo cero sin que ocurran daños fisiológicos (-18°C, a un contenido de humedad de 5 a 7 %). Contrariamente, las semillas recalcitrantes deben ser almacenadas con alto contenido de humedad, con el propósito de que su viabilidad no disminuya rápidamente (Ordoñez et al., 2004).

2.2.3.1. Factores que intervienen en la germinación

La germinación es una secuencia de eventos influenciada directamente por varios factores internos y externos que interactúan permanentemente. Dentro de los factores externos se encuentran principalmente la humedad, temperatura. Los internos que

intervienen son los promotores e inhibidores de la germinación, la activación metabólica en general y la regulación genética particular (Trujillo, 1996).

La fisiología de la germinación aún no está totalmente determinada, aunque existen por lo menos tres teorías bioquímicamente fundamentadas. Sobre algunos de los factores y restricciones existentes es posible la aplicación de tratamientos pregerminativos. La iniciación de la germinación requiere que se lleve tres condiciones:

Primero: La semilla debe ser viable, esto es, el embrión debe estar vivo y ser capaz de germinar; segundo: La semilla no debe estar en letargo ni el embrión quiescente. No debe existir barreras fisiológicas o físicas que induzcan letargo ni barreras químicas para la germinación y el tercero: La semilla debe estar expuesta a las condiciones ambientales apropiadas. Disponibilidad de agua, temperatura adecuada, provisión de oxígeno y en ocasiones luz (Trujillo, 1996).

Debido a las complejas interacciones entre el ambiente y condiciones específicas de letargo, dichas exigencias pueden cambiar con el tiempo y los métodos de manejo de las semillas también. Así, el segundo requisito, evitar el letargo, puede, a veces, satisfacerse proporcionando las condiciones ambientales apropiadas (Hartman y Kester, 1987).

2.2.3.2. Factores que impiden la germinación de la semilla

El letargo seminal tiene una importancia crítica para la supervivencia de las plantas. Han evolucionado mecanismos que impiden a la semilla germinar inmediatamente después de caer al suelo, aunque las condiciones ambientales sean buenas, los mecanismos que causan el letargo en la semilla o lo prolongan impidiendo la germinación son los siguientes (Bidwell, 1993).

Factores ambientales o externos: Exigencia de luz para la germinación, altas temperaturas y ausencia de agua y factores internos: Testa de la semilla impide el intercambio gaseoso, testa de la semilla: efectos mecánicos, inmadurez del embrión, baja concentración del etileno y presencia de inhibidores.

2.2.3.3. Tratamientos pregerminativos

Agua.

El agua es un factor imprescindible en el proceso de germinación. La semilla absorbe agua hasta la imbibición, lo que permite la activación de los procesos metabólicos. Dependiendo de la composición química de la semilla se tiene un mayor o menor nivel de imbibición. Existe un mayor nivel de hidratación en proteínas y menor en oleaginosas o en general semillas ricas en grasas. La imbibición está directamente relacionada con el potencial hídrico. Durante la hidratación ocurre una dispersión de coloides, se hidratan las reservas y se activan los sistemas enzimáticos de hidrólisis (Trujillo, 1996). Se puede dividir el proceso de imbibición en tres etapas:

Proceso de absorción rápido, puramente físico e indiferente de la viabilidad de la semilla; Fase estacionaria y fase metabólica, lenta prolongada y dependiente de las condiciones de temperatura y se reactivan organelas, se produce un aumento en la respiración y por tanto hay liberación de energía indispensable para la germinación (Trujillo, 1996).

El agua es primordial pues las semillas están extremadamente deshidratadas. Normalmente contienen solo del 5 al 20 % de agua de su peso total y tiene que absorber una buena cantidad antes de que se inicie la germinación; el primer estadio de la

germinación llamado "imbibición" es por lo tanto de rápida toma de agua. Hay indicaciones que no hay crecimiento sino hasta que se alcanza un cierto nivel crítico de agua (diferente para los diversos tipos de semillas). Si se deseca la semilla después de pasado este punto y de haberse iniciado el metabolismo muere (Bidwel, 1993).

2.2.4. Plántulas normales

Según el ISTA (2016). Las plántulas normales muestran potencial de desarrollo continuo en plantas satisfactorias cuando se cultivan en tierra de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Para ser clasificada como normal una plántula debe cumplir con una de las siguientes categorías:

Plántulas intactas: plántulas con todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas, en proporción y con buena salud y plántulas con defectos leves: plántulas que muestran ciertos defectos leves de sus estructuras esenciales, siempre que muestren un desarrollo satisfactorio y equilibrado de otro modo comparable al de las plántulas intactas de la misma prueba.

2.2.4.1. Desarrollo de las plántulas

Las plántulas que han alcanzado una etapa en que todas las estructuras esenciales se puedan evaluar con precisión deben ser removidas del análisis en el primer y cualesquiera otros conteos intermedios. Se deben eliminar las plántulas deterioradas con el fin de reducir el riesgo de infección secundaria, pero plántulas dudosas con otros defectos se deben dejar en el sustrato hasta el recuento final, a menos que sea obvio que nunca se convertirán en plántulas normales, por ejemplo, plántulas rotas y plántulas blancas (ISTA, 2016).

2.3. Hipótesis

Ho: La escarificación física tendrá efecto sobre la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350.

Hi: La escarificación física no tiene efecto sobre la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350 (ver anexo 3).

2.4. Definición de términos

Deterioro: Empeoramiento del estado, calidad, valor, etc., de las semillas.

Dormancia: Se llama dormancia (del inglés, dormancy, también conocido como dormición) a un período en el ciclo biológico de un organismo en el que el crecimiento, desarrollo y actividad física se suspenden temporalmente. Esto reduce drásticamente la actividad metabólica permitiendo que el organismo conserve energía.

Germinación: Reanudamiento del crecimiento activo en un embrión que resulta en su emergencia de la semilla y desarrollo de las estructuras esenciales para el desarrollo de la planta. (Bonner, 2006).

Germinación epigea: tipo de germinación en la que los cotiledones y el brote se llevan sobre el nivel del suelo por elongación del hipocótilo (ISTA, 2016).

Germinación hipogea: tipo de germinación en la que el cotiledón(s) o estructura comparable (por ejemplo, escutelo) permanece en el suelo y dentro de la semilla. El brote se lleva sobre el nivel del suelo por elongación del Epicótilo en las dicotiledóneas, o por el mesocótilo en algunas monocotiledóneas. (ISTA, 2016).

Humedad: Cantidad de agua, vapor de agua o cualquier otro líquido que está presente en la superficie o el interior de un cuerpo o en el aire.

Latencia: Condición o estado latente.

Leguminosa: Familia de plantas dicotiledóneas (hierbas, matas, arbustos y árboles) de flores con corola amariposada, agrupadas en racimos o en espigas, con diez estambres, libres o unidos por sus filamentos, y fruto casi siempre en legumbre.

Plántula: Embrión que nace.

Pretratamiento: Cualquier tipo de tratamiento aplicado a las semillas para romper la latencia y acelerar la germinación. (Bonner, 2006).

Porcentaje de germinación: Sinónimo: capacidad de germinación: proporción de una muestra de semilla que ha germinado en forma normal en un periodo de prueba específico, generalmente expresado como un porcentaje. (Bonner, 2006).

Pureza: Calidad de puro. (Bonner, 2006).

Semilla: Es un óvulo maduro que tiene un embrión y tejido nutritivo y está envuelto en capas protectoras de tejidos que viene a ser la testa. (Bonner, 2006).

TG: tasa de germinación.

AP: altura de la planta.

LR: longitud de raíz.

DR: diámetro de raíz.

DT: diámetro de tallo.

NH: número de hojas.

2.5. Variables de estudio

2.5.1. Variable dependiente

Germinación

2.5.2. Variable independiente.

Escarificación física:

Tiempos de remojo.

Temperaturas.

2.5.3. Definición operativa de las variables e indicadores

Tabla 1.

Operacionalización de variables.

Variable	Indicadores	Escala
Variable independiente:		
Escarificación física:		
Tiempos de remojo	Min (0, 10, 20 y 30)	Intervalo
Temperaturas	°C (10, 20, 30 y 40)	
Variable dependiente:		
Germinación de semillas.	%	Proporcional.

Fuente: elaboración propia.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación.

De acuerdo al objetivo la investigación es Aplicada: La investigación aplicada busca la generación de conocimiento con aplicación directa a los problemas de la sociedad o el sector productivo. Esta se basa fundamentalmente en los hallazgos tecnológicos de la investigación básica, ocupándose del proceso de enlace entre la teoría y el producto (Bernal, 2010).

La investigación aplicada recibe el nombre de “investigación práctica o empírica”, que se caracteriza porque busca la aplicación o utilización de los conocimientos adquiridos, a la vez que se adquieren otros, después de implementar y sistematizar la práctica basada en investigación. El uso del conocimiento y los resultados de investigación que da como resultado una forma rigurosa, organizada y sistemática de conocer la realidad (Murillo, 2008).

3.2. Nivel de investigación

El nivel de la investigación es experimental: La investigación experimental es un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen que viene a ser la variable dependiente (Arias, 2006).

Los experimentos son como estudios de intervención, porque un investigador genera una situación para tratar de explicar cómo afecta a quienes participan en ella en comparación con quienes no lo hacen. Los experimentos manipulan tratamientos, estímulos, influencias o intervenciones (denominadas variables independientes) para observar sus efectos sobre otras variables (las dependientes) en una situación de control (Creswell, 2009).

3.3. Método de investigación.

Es científico, porque ofrece un conjunto de técnicas y procedimientos para la obtención de un conocimiento teórico con validez y comprobación científica mediante el uso de instrumentos fiables que no dan lugar a la subjetividad (Ferrer, 2010).

Los principales métodos que se utilizaran en la investigación será análisis, síntesis, deductivo, inductivo. Porque los resultados son obtenidos mediante una secuencia lógica. Es un plan previo referente a la formulación del programa de acciones de trabajo y de los recursos necesarios para llevar a cabo una investigación determinada, respecto de determinado aspecto de la realidad (Hernández et al., 2014).

3.4. Diseño de investigación.

El diseño de investigación es experimental: ya que para esta investigación se utilizó los experimentos “puros” son aquellos que reúnen los dos requisitos para lograr el control y la validez interna: grupos de comparación (manipulación de la variable independiente) y equivalencia de los grupos. Estos diseños llegan a incluir una o más variables independientes y una o más dependientes, Campbell y Stanley (1966). Un diseño es un plan o estrategia que se desarrolla para obtener la información que se requiere en una investigación. De la misma manera manifiesta que para un diseño experimental (Hernández et al, 2014).

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 4 x 4 (diferentes temperaturas en agua y tiempos de remojo), se evaluó la germinación de semilla de alfalfa de variedad AGP 350, y las 80 pruebas (4 X 4) con 5 repeticiones por tratamiento, de acuerdo al siguiente modelo estadístico.

Modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + TR_j + (T \ TR)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = la puntuación del k sujeto bajo la combinación del i valor del factor A (temperaturas) y el j valor del factor B (tiempos de remojo).

μ = la media común a todos los datos del experimento.

T_i = el efecto o impacto de i nivel de la variable de tratamiento A (temperaturas).

TR_j = efecto del j valor de la variable de tratamiento B (tiempos de remojo).

$(T \ TR)_{ij}$ = efecto de la interacción entre el i valor de A y el j valor de B.

ϵ_{ijk} = error experimental o efecto aleatorio de muestreo.

Se realizó los Análisis de variancia (ANOVA) para el porcentaje de germinación de semilla de alfalfa de variedad AGP 350 sometidos a una escarificación física con un nivel de significación de 95%. Para la comparación de medias de los tratamientos se empleó la prueba de Tukey con 5% de probabilidad, utilizando el programa estadístico Statistical Analysys System (SAS. 9.4.)

3.5. Población, muestra y muestreo.

3.5.1. Población.

La población es “el conjunto de todos los elementos a los cuales se refiere la investigación. Se puede definir también como el conjunto de todas las unidades de muestreo” (Fracica, 1988). La población es “la totalidad de elementos o individuos que tienen ciertas características similares y sobre las cuales se desea hacer inferencia” o bien, unidad de análisis (Jany, 1994).

Para esta investigación la población estaba constituida por un lote de semillas adquiridas por Agro Rural de la Región Huancavelica el cual fue distribuido a los productores agropecuarios. El lote semillas que fue adquirido por Programa de Desarrollo Agrario Productivo Rural AGRO – RURAL fue de 14 250Kg de alfalfa de variedad AGP - 350, para la instalación de pastos cultivados, estas semillas fueron importadas desde Canadá.

3.5.2. Muestra.

Para el proceso cuantitativo la muestra es un subgrupo de la población de interés sobre el cual se recolectarán datos, y que tiene que definirse o delimitarse de antemano con precisión, éste deberá ser representativo de dicha población. El investigador pretende que los resultados encontrados en la muestra logren generalizarse o extrapolarse a la población (en el sentido de la validez externa que se comentó al hablar de experimentos). El interés es que la muestra sea estadísticamente representativa (Hernández et al., 2014).

El tamaño muestral para la investigación de porcentaje de germinación de semilla de alfalfa fue de 240g, los cuales se tomaron del lote de semillas del Programa de Desarrollo Agrario Productivo Rural AGRO – RURAL.

3.5.3. Muestreo.

Los muestreos no probabilísticos, pese a ser consideradas poco rigurosas y carentes de base teórica, son bastante frecuentes, incluso hay situaciones en que es más conveniente usar un muestreo no probabilístico, por ejemplo, cuando vamos a hacer estudios de casos, de poblaciones heterogéneas, o en estudios que son dirigidos a poblaciones y grupos muy específicos donde la interesa una cuidadosa y controlada selección de sujetos con determinadas características (Scharager y Armijo, 2001).

Para esta investigación se llevó a cabo un muestreo no probabilístico de tipo intencional, donde la técnica de muestreo es manipulada por el investigador para seleccionar las muestras basadas en un juicio subjetivo en lugar de hacer la selección al azar, en donde no todos los miembros de la población tienen la oportunidad de participar en el estudio.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

3.6.1. Técnica.

Técnica de observación directa

Consiste en observar detalladamente cada una de las semillas que se está evaluando por medio de la escarificación física, de esta forma se determina la cantidad de semillas que germinaron de la alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP – 350, esto se realiza bajo las normas del (ISTA, 2016).

3.6.2. Instrumento.

Registro de observación

Para registrar los datos obtenidos de la germinación de semilla de alfalfa en esta investigación se utilizó el registro de observación, esta es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis (Díaz, 2011).

3.7. Procedimiento de recolección de datos.

Los datos fueron obtenidos en el laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos – LUNEA. Estos datos fueron anotados en los registros de observación; para posteriormente crear una base de datos de los parámetros en estudio en el programa Excel 2010.

3.7.1. Obtención de datos.

Se trabajó con 240g de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350, en donde se realizaron los siguientes procedimientos para la obtención de datos de la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350:

Se realizó la compra de 100 unidades de papel filtro, luego estos fueron cortados en tamaños de 30 x 40cm.

Una vez que el papel filtro estaba listo se procedió a desinfectar las mesas donde se realizó el trabajo de colocar las semillas en el papel filtro.

Seguidamente se procedió a hacer hervir el agua en una hervidora desinfectada según las diferentes temperaturas (10, 20, 30 y 40°C), para luego realizar el remojo de

las semillas en unos vasos descartables que ya contenían las 100 o 3g semillas de alfalfa por diferentes tiempos.

Después de los diferentes tiempos de remojo (0, 10, 20 y 30 min) se procedió a colocar las semillas en el papel filtro mojado a una distancia 4 x 1 cm de distancia, luego se cubrió con otro papel filtro mojado.

Luego de que las semillas fueron colocadas en el papel filtro se enrolló en forma de tabaco, colocándolos en unas bolsas herméticas con auto cierre en forma vertical cada tratamiento.

Teniendo ya todos los tratamientos en sus respectivas bolsas se procedió a realizar el pre-enfriamiento a una temperatura de 4°C por un periodo de 3 días de acuerdo a las normas del ISTA (2016).

Pasado este tiempo todos los tratamientos fueron retirados de la refrigeradora para ser trasladados a una incubadora con el fin de mantener constante la temperatura por un periodo de 10 días, la temperatura en la incubadora fue de 20°C, esto es recomendado por las normas del ISTA (2016).

Pasado los 4 días de prueba de germinación se procedió a revisar cada uno de los tratamientos con mucho cuidado para no dañar las plántulas que se estaban formando, esto con la finalidad de observar el avance de la germinación.

Finalmente cumplido los 10 días se realizó el conteo de germinación de semilla de alfalfa, ello siempre respetando las normas del ISTA (2016). Para luego crear la base de datos.

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos estadísticos.

Para el análisis de los datos de germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350, se utilizó el paquete estadístico Statistical Analysys System (SAS 9,4) y Microsoft Excel 2016 para calcular las medias y curva.

Statistical Analysys System (SAS 9,4) es un programa informático especialmente diseñado para resolver problemas en el área de la estadística. Existen muchos programas que no son especialmente estadísticos pero que pueden hacer algunos cálculos aplicables en estadística aplicada. Estos programas han impulsado y siguen impulsando la labor de los investigadores que desean utilizar la estadística como apoyo en su trabajo (Goodnight et al., 1976).

El sistema SAS proporciona numerosas herramientas para el análisis estadístico de datos y la generación de informes. Además del SAS BASE y del SAS/STAT, la Universidad Complutense de Madrid cuenta con licencia de los módulos SAS/GRAPH para la realización de gráficos, SAS/OR de investigación operativa, SAS/ETS para análisis de series temporales, SAS/IML para cálculos matriciales, SAS/FSP para construcción de paneles de entrada de datos, SAS/AF para desarrollo de aplicaciones, SAS/QC para control de calidad, SAS/INSIGHT para inspección visual de datos, SAS PC File Formats y SAS/EIS (Executive Interactive System), SAS/CONNECT para ejecución de SAS en remoto, SAS MDDDB Server common products (Goodnight et al., 1976).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Resultado de escarificación física sobre la germinación de semilla de alfalfa

Tabla 2.

Medias de germinación de semillas de alfalfa con los factores de tiempos de remojo y temperaturas.

°C	Temperaturas					Prom (%)
	Min	10	20	30	40	
Tiempos de remojo	0	87,50 AB a	80,25 B b	92,50 A a	90,50 A a	87,69 a
	10	89,25 A a	88,50 A a	83,25 A b	82,75 A a	85,94 a
	20	80,50 A ab	80,00 A b	81,50 A b	84,50 A a	81,63 b
	30	85,50 A b	83,50 A ab	82,25 A b	87,00 A a	84,69 ab
Prom (%)		85,69 A	83,06 A	84,88 A	86,31 A	

Medias con la misma letra minúscula en la misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$) entre sí, por la prueba de tukey.

Medias con la misma letra mayúscula en la misma fila no difieren significativamente ($p < 0,05$) entre sí, por la prueba de tukey.

Fuente: Elaboración propia.

Para las diferentes temperaturas no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$); sin embargo, numéricamente existen diferencias en la germinación de semilla de alfalfa como se puede ver en la tabla 2, siendo mejor la germinación a los 40°C en 0 min de tiempo de remojo con el 90,50%.

Para los tiempos de remojo si hubo diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$), resultando mejor los de 0, 10 y 30 min de tiempo de remojo con el 87,69%; 85,94% y 84,69% respectivamente, como se puede observar en la tabla 2.

4.1.2. Resultado de los tiempos de remojo sobre la germinación de semilla de alfalfa

Tabla 3.

Medias de germinación de semilla de alfalfa para los tiempos de remojo.

Tiempo de remojo (min)	Germinación (%)
0	87,69 a
10	85,94 a
20	81,63 b
30	84,69 ab
Promedio (%)	84,98

Medias con la misma letra en la misma columna no difieren significativamente ($p<0,05$) entre sí, por la prueba de tukey.

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 3 se observa que hay diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) de los diferentes tiempos de remojo sobre la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350; sin embargo, las semillas sin tratar fueron los que arrojaron mejores porcentajes de germinación con el 87,69%, seguido de los 10 y 30 minutos de tiempo

de remojo con 85,94% y 84,69% respectivamente, mientras que a los 20 minutos de tiempo de remojo la germinación fue inferior a los otros tratamientos con 81,63%.

En la figura 1 se muestra la relación entre el porcentaje de germinación y los tiempos de remojo. Para la germinación de semilla de alfalfa se observó que a medida que se incrementó el periodo de tiempo de remojo, la germinación tiende a disminuir hasta que al llegar a un punto donde nuevamente comienza a incrementar, siendo mayor la germinación a los 0 minutos 87,69%.

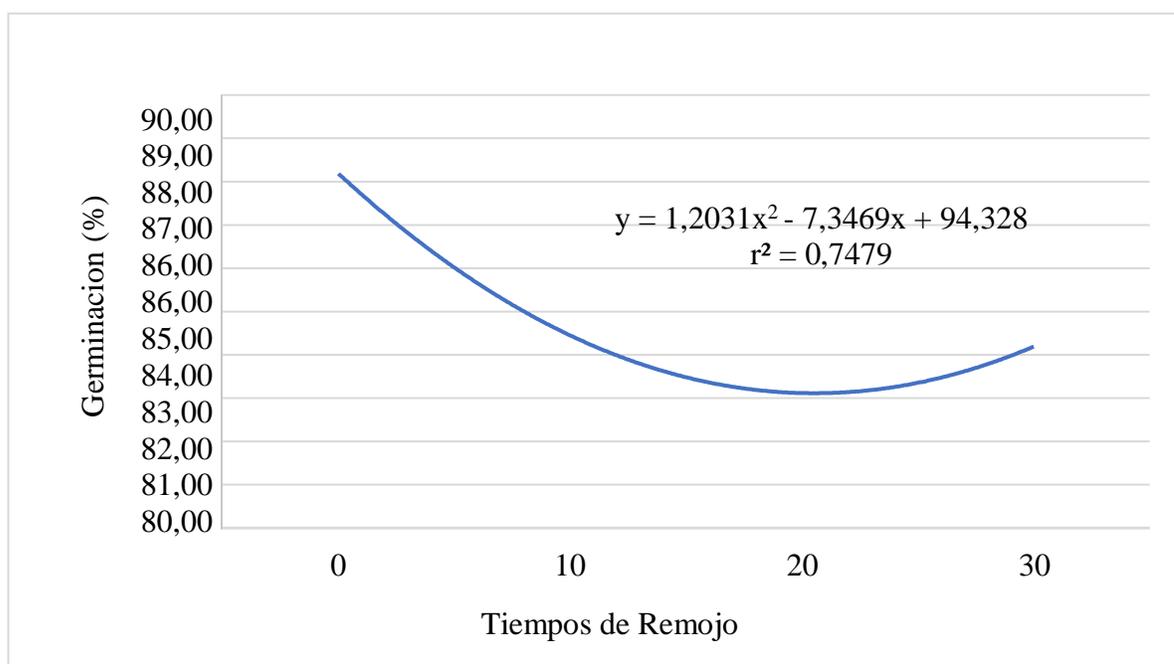


Figura 1. Curva de medias de germinación de semilla de alfalfa para los tiempos de remojo.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.3. Resultado de la temperatura sobre la germinación de semilla de alfalfa

Tabla 4.

Medias de germinación de semilla de alfalfa con el factor temperatura.

Temperatura (°C)	Germinación (%)
10	85,69 a
20	83,06 a
30	84,88 a
40	86,31 a
Promedio (%)	84,98

Medias con la misma letra en la misma columna no difieren significativamente ($p < 0.05$) entre sí, por la prueba de tukey.

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 4 se observa que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) de las diferentes temperaturas sobre la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350; esto nos quiere decir que las diferentes temperaturas tienen un efecto similar, siendo mejor a mayor temperatura con 86,31%; seguido de 85,695; 84,88% y 83,06% para 10, 30 y 20°C respectivamente.

En la figura 2 se muestra la relación entre el porcentaje de germinación y las diferentes temperaturas. Donde se observó que a medida que se incrementó las temperaturas la germinación fue mayor, siendo el mejor a los 40°C con el 86, 31%.

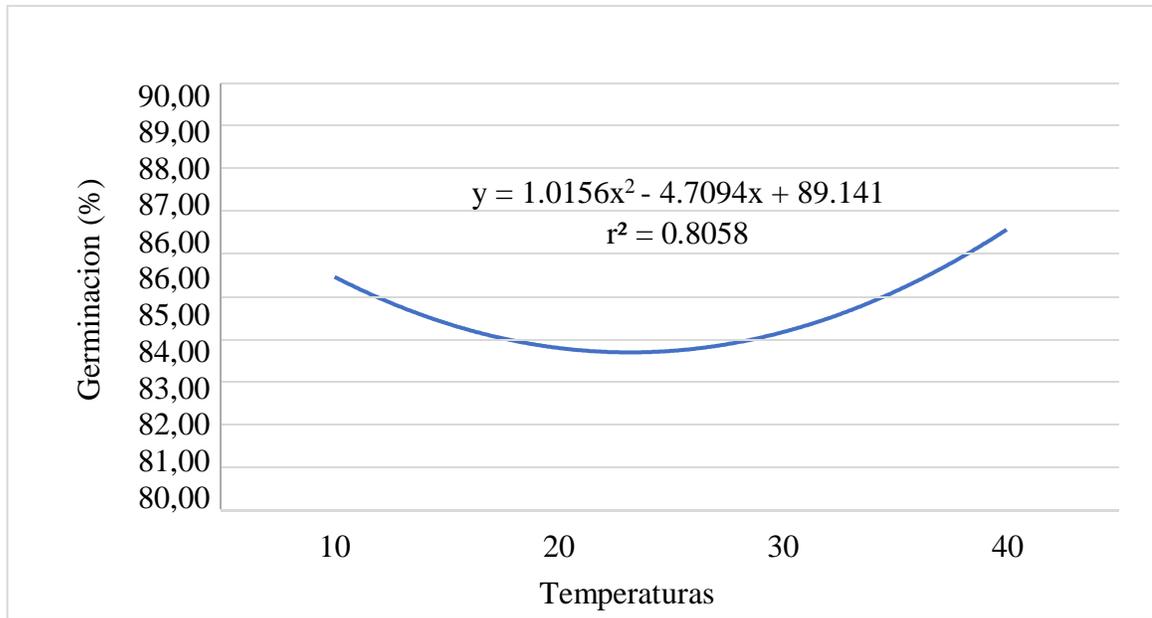


Figura 2. Curva de medias de germinación de semilla de alfalfa para las temperaturas.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.4. Resultados de la interacción entre los tiempos de remojo y temperaturas sobre la germinación de semilla de alfalfa

La interacción entre los tiempos de remojo y diferentes temperaturas fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) sobre la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350 como se puede observar en el anexo 3; así mismo en la figura 3 podemos observar el comportamiento de cada uno de los tiempos de remojo conforme se incrementó la temperatura, donde para 0 minutos de tiempo de remojo la germinación incrementa conforme aumenta la temperatura con una ecuación y r^2 de $y = 1,3125x^2 - 4,4375x + 88,938$; $r^2 = 0,341$ respectivamente, 10 minutos de tiempo de remojo conforme la temperatura incrementa la germinación disminuye con una ecuación y r^2 y $y = 0,0625x^2 - 2,7875x + 92,438$; $r^2 = 0,8775$ respectivamente, para 20 minutos de tiempo de remojo la germinación incremento conforme la temperatura se incrementa con una ecuación y r^2 de $y = 0,875x^2 - 3,025x + 82,625$; $r^2 = 0,999$ respectivamente y para 30 minutos de tiempo de remojo la

germinación se mantiene constante hasta los 30°C, luego incremento a 40°C de temperatura con una ecuación y r^2 de $y = 1,8125x^2 - 8,5875x + 92,563$; $r^2 = 0,8962$ respectivamente.

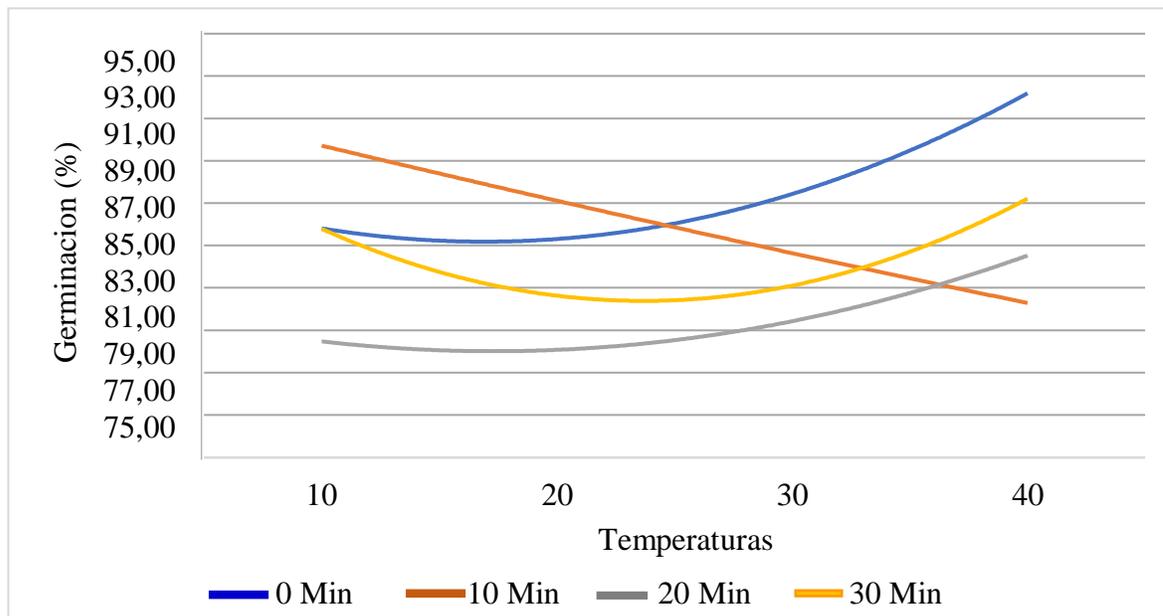


Figura 3. Interacción entre las diferentes temperaturas y los tiempos de remojo sobre la germinación de semilla de alfalfa.

Fuente: elaboración propia.

4.2. Discusión

Para el objetivo general

Los tratamientos de escarificación física con diferentes tiempos de remojo fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$); sin embargo, para las temperaturas no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$); mostrando los mejores porcentajes de germinación conforme se incrementó la temperatura (40°C) en los diferentes tiempos de remojo, datos que concuerdan con los reportados por Travlos y Economou, (2006) quienes evaluaron la germinación en semillas de *Medicago arborea L.* encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para los diferentes tiempos de remojo a una temperatura de 100°C mostrando los mejores porcentajes de germinación a temperaturas altas.

Así mismo en la tabla 2 se observa que el mejor porcentaje de germinación se dio cuando a la semilla se sometió a 30°C en 0 min de tiempo de remojo con el 92,50% de germinación, estos resultados fueron superiores a los indicados por Clarence y Rincket, (1954). Quienes lograron 84,00% de germinación en semillas de alfalfa al tratarlas con agua caliente a 90°C por 4 minutos de tiempo de remojo. Del mismo modo los mayores porcentajes de germinación de la semilla de alfalfa, se dio a los 40°C en 0 y 30 minutos con 90,50% y 87% respectivamente a los 10 días de evaluación como se puede observar en la tabla 2, datos que son inferiores a los reportados por Baskin et al., (2007), quienes reportan que a los 80°C y 60 min de tiempo de remojo la germinación fue del 100%, mientras que a los 100°C y 15 minutos fue de 93% a los 14 días de evaluación, en semillas de *Dodonaea viscosa* (*Sapindales*, *Sapindaceae*) bajo el efecto del calor seco. Del mismo modo a los 0 minutos de tiempo de remojo en 30°C de temperatura se alcanzó una germinación de 92,50% de la semilla de alfalfa que es similar a los 97% de germinación obtenido por Baskin et al., (2007).

En la tabla 2 se observa que a los 40°C en 20 y 30 minutos de tiempo de remojo se obtuvo una germinación de 84,50% y 87%, datos que son similares a los que se obtuvieron Clarence y Rincket (1954), quienes realizaron la investigación del efecto del calor en semillas impermeables de alfalfa, trébol dulce, y trébol rojo, teniendo como resultado que a 90°C con 4 minutos de tiempo remojo el porcentaje de germinación de semilla de alfalfa fue de 84%. Así mismo Steinbauer (1926), quien realizó la investigación de diferencias en resistencia a bajas temperaturas mostrado por las variedades del trébol, reportando que a los 0°C y 30 minutos de tiempo de remojo obtuvo el 85% de germinación de la semilla de trébol, lo cual es similar a lo que se encontró en esta investigación ya que a los 10°C y 30 minutos de tiempo de remojo la germinación de semilla de alfalfa fue de 85,50%. Por otro lado, Stanisavljevic et al., (2018), quienes realizaron la aplicación

de los tratamientos de temperatura para mejorar la calidad de alfalfa antes de la siembra, reportaron resultados superiores al de nuestra investigación con porcentajes de germinación de 94% con 80°C y 60 minutos de tiempo de remojo en la variedad Banat.

Para el primer objetivo específico

Los tratamientos de escarificación física con diferentes tiempos de remojo mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellos, mostrando que a los 0, 10 y 30 minutos fue mejor el porcentaje de germinación, la escarificación mediante los tiempos de remojo arrojó un 87,69%; 85,94%; 81,63% y 84,69% para 0, 10, 20 y 30 minutos, estos resultados son similares a los 90,75%; 90,25%; 89,25% y 86,00% para ½, 1, 2 y 4 horas respectivamente obtenidos por Ernest y Staker, (1925) en semillas de alfalfa; quienes también mencionan que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos

El tiempo de remojo de 20 min presentó 81,63% de germinación, valor que fue diferente estadísticamente ($p < 0,05$) de los tratamientos de 0, 10 y 30 minutos datos que son inferiores a los obtenidos por Ernest y Staker, (1925) quienes obtuvieron 86% de germinación en semillas de alfalfa remojadas durante 4 horas. Estos porcentajes bajos podrían deberse a la alta impermeabilidad de la semilla, aunado a que los tiempos de remojo empleados no fue suficiente para favorecer la imbibición de la semilla, romper la dureza de la cubierta y permitir la rápida salida del embrión.

Pipinis et al., (2010) indicaron que a los 3 meses de estratificación en frío para 20, 40 y 60 minutos de escarificación alcanzó una germinación del 94%, 88% y 98% respectivamente en semilla de *Cercis siliquastrum* que pertenece a la familia de las leguminosas, datos que son superiores a los que se encontró en esta investigación, donde los porcentajes de germinación para

0, 10, 20 y 30 min fue de 87,69%; 85,94%; 81,63% y 84,69% respectivamente. Esto puede estar relacionado con el tipo de escarificación que se ha utilizado en las investigaciones.

La germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350 a los 0 minutos de tiempo de remojo es de 87,69% dato que es similar a los reportes de Hinojosa y Vásquez (2015), quienes determinaron la germinación de cebada, donde menciona que a las 0 horas de tiempo de remojo alcanzo el 87% de germinación.

Para el segundo objetivo específico

No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) con referencia a las diferentes temperaturas; sin embargo, la germinación aumento y medida que la temperatura se incrementó estos datos son similares a los resultados obtenidos por Ernest y Staker (1925) quienes mencionan que el agua caliente permitió mayor porcentaje de germinación, eliminando la latencia en las semillas de alfalfa empleando agua a 60, 70, 80 y 90°C, con de 89,50%; 88,75%; 92,25% y 85,75% germinación respectivamente; estos datos son superiores a los que se obtuvo en esta investigación empleando agua a 10, 20, 30 y 40°C; con 85,69%; 83,06%; 84,88% y 86,31% de germinación respectivamente. Por otra parte, los resultados obtenidos fueron mayores a los reportados por Steinbauer (1926), quien logro una germinación de 74,00%; 53,00%; 33,00%; 26,00% 9,00%; 8,50%; 5,50%; 4,00%; 0,00% y 0,00% para 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C respectivamente en semillas de trébol.

Así mismo la germinación de semillas de alfalfa a los 30°C fue de 84,88% como se muestra en la tabla 4, estos resultados son superiores a lo reportado por Pérez (2007), quien evaluó el efecto de la escarificación mecánica (30°C, sin luz) en la germinación de semillas de Mimosa aculeaticarpa var. Biuncifera (Benth) Barneby (Fabaceae), donde obtuvo una germinación de 72%

con 30°C de temperatura, del mismo modo el mejor porcentaje de germinación para esta investigación fue a los 40°C, con 86,31%, esto es inferior a lo reportado por Contreras (2012), quien menciona que a los 26°C de temperatura alcanzo una germinación de 98% para la especie *Frankenia gypsophila*.

Hall et al., (1997) indicaron que para 35°C hubo 53% y 68% de germinación para semilla de alfalfa variedad apica y barrier respectivamente, estos datos son inferiores a los que se encontró en esta investigación, donde se obtuvo el 84, 88% de germinación en agua a 30°C de temperatura. Por otro lado, este resultado es superior a lo reportado por Rutar et al., (2001) quienes lograron una germinación de 74,75%; 80,25% y 73,25% para semillas de alfalfa variedad OS-10, OS-88 y Slavonka respectivamente.

A los 30°C de temperatura se obtuvo una germinación de 84,88% como se puede observar en la tabla 4, este dato es inferior a lo reportado por McDonald (2002), quien evaluó la germinación de 13 especies de leguminosas más la alfalfa bajo la luz constante a diferentes temperaturas con intervalo de 4°C (8 – 44°C), obteniendo una germinación del 95% en alfalfa (*Medicago sativa L.*) a una temperatura de 36°C a los 14 días de evaluación. Así mismo, Rodríguez et al. (1985), quien realizó diferentes métodos de escarificación en la germinación de semillas de *leucocephala Lam*, obteniendo a los 12 días el mejor porcentaje de germinación (94%) cuando sometió la semilla a 80°C durante 3 minutos, esto es superior a lo que se obtuvo en esta investigación que el mejor porcentaje de germinación fue a los 40°C con 86,31% a los 10 días de evaluación. Robert et al., (2014) Realizarón el efecto de calor seco (45 – 80°C) en la germinación de semillas de 18 especies de leguminosas, donde obtuvieron los siguientes resultados, el máximo porcentaje de germinación ocurrió cuando las semillas fueron sometidos a 70°C con el 90% de germinación en la especie *Desmodium fernaldii Schub*, datos que son superiores a los que obtuvimos en la investigación.

Así mismo Herranz et al., (1998), evaluarón el efecto de agua caliente en la germinación de 7 especies de leguminosas Mediterráneas, sometiendo a las semillas a una temperatura de 50 – 150°C por un periodo de 1 a 60 minutos, donde los mejores porcentajes de germinación se lograron cuando hicieron precalentamientos de 90°C (5 y 10 min), 120°C (5 y 10 min), y 150°C (1 min), excepto las especies de *C. patens.* y *C. reverchonii*, resultados que concuerdan con lo observado en esta investigación que a mayor temperatura los porcentajes de germinación incrementan.

Para el tercer objetivo específico

La interacción entre los tiempos de remojo y diferentes temperaturas es significativa ($p < 0.05$) sobre la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350, resultados que coinciden con los reportes de Pipinis et al., (2010) quienes evaluaron el efecto de escarificación con ácido y la estratificación húmeda fría en la germinación de semilla de *Cercis siliquastrum* que pertenece a la familia de las leguminosas, donde la interacción entre la escarificación ácido y tratamientos de estratificación en frío afectada significativamente ($p < 0,05$) sobre la germinación de semillas.

A los 30 minutos de tiempo de remojo en 40°C de temperatura la germinación fue de 87% y a los 0 minutos en 30°C de temperatura alcanzó una germinación de 92,50%, datos que son similares a los reportes de Stanisavljevic et al., (2018) quienes evaluaron tasa de germinación y la proporción de semillas duras / latentes de alfalfa variedad Banat sometiendo a diferentes temperaturas con diferentes tiempos de remojo, en donde mencionan que a los 30 minutos y una temperatura de 70°C obtuvieron una germinación de 84% y alcanzando el mejor porcentaje de germinación de 94% con 60 minutos de tiempo de remojo y una temperatura de 80°C.

CONCLUSIONES

a. Conclusión general

Los tratamientos de escarificación física con los diferentes tiempos de remojo tuvieron en efecto significativo ($p < 0,05$) sobre la germinación de semilla de alfalfa, mientras que para las diferentes temperaturas no tuvo un efecto significativo ($p > 0,05$); finalmente la interacción de estos dos factores es significativa ($p < 0,05$), lo cual indica una dependencia entre estos dos factores de escarificación.

b. Conclusiones específicas:

1. La germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350 difieren significativamente ($p < 0,05$) entre los diferentes tiempos de remojo, observándose que los mejores porcentajes de germinación se dieron a los 0, 10 y 30 minutos de tiempo de remojo.
2. Por otro lado, no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las diferentes temperaturas, observándose que el mejor porcentaje de germinación se dio conforme se incrementó la temperatura, siendo mejor a los 40°C.
3. Los tiempos de remojo y las diferentes temperaturas tuvieron una interacción significativa ($p < 0,05$) sobre la germinación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad AGP 350, esto nos quiere decir que las temperaturas requieren de los tiempos de remojo y viceversa.

RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos de investigación con tratamientos pre germinativos como hidratación con diferentes tiempos en la germinación de semillas de alfalfa o semillas forrajeras, pero determinando nuevos tiempos de remojo que sean superiores al de esta investigación.
2. Las temperaturas aceleran e incrementan el porcentaje de germinación de las semillas, pero para nuevas investigaciones se recomienda probar temperaturas más altas como tratamiento en la germinación de semillas de alfalfa o forrajeras.
3. De acuerdo a la investigación la combinación de tratamientos pregerminativos o escarificación física (tiempos de remojo y temperaturas) resulta positivo para la germinación de semilla de alfalfa; por ende, sería bueno probar nuevas combinaciones de escarificación ya sea en semilla de alfalfa u otras semillas forrajeras.
4. Así mismo se recomienda evaluar el porcentaje de germinación de semillas de alfalfa a nivel de campo, con la finalidad de corroborar los porcentajes determinados en esta investigación.
5. Finalmente es necesario realizar estudios pre germinativos en otras especies de semillas forrajeras.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alderete A, et al., (2010). *Effects of different Scarification treatments on the germination of Lupinus leptophyllus sedes*. International Journal of Botany 6 (1): 64 – 68, ISSN 1811 – 9700, Asian Network for Scientific Information. División de ciencias forestales Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco – México.
- Baskin, et al, (2007). *Physical dormancy in seeds of dodonaea viscosa (sapindales, sapindaceae) from hawaii*. *Seed science research* / volume 14 / issue 01. Doi: 10.1079/ssr2003157, published online: 22 february 2007. 11 p. Disponible en: http://journals.cambridge.org/abstract_s096025850400008x.
- Bernal César A., (2010). *Metodología de la investigación*. Tercera edición Pearson educación, colombia, isbn: 978-958-699-128-5. 110pag.
- Bernal, E J., (2008). *Uso de semillas de buena calidad. En pastos y forrajes tropicales producción y manejo*. 5ª ed. Bogotá, Colombia. Pp. 427 – 435.
- Besnier Romero, (1990). *Semillas, biología y tecnología*. ediciones mundi-prensa. España.
- Bidwell S. (1993). *Fisiología vegetal*. 2 edic. En español edit. Ag.t. editor, s.a. México, d.f. 784 p.
- Bonner, F. (2006). *Glosario de términos sobre germinación de semillas para personal que trabaja en semillas forestales (en línea)*. Australia. Consultado el 25 de jun. 2011. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/a0025s/a0025s06.pdf>.
- Bravo Campos Einstein, (2014). *Germinación de semilla botánica de terminalia amazonia (j. F. Gmel.) Exell, utilizando cinco tratamientos pregerminativos*. Tesis de pregrado de

- ingeniería forestal de la universidad nacional de Cajamarca – Perú. 95 p. Disponible en:
<http://repositorio.unc.edu.pe/handle/unc/392>.
- Camacho, M. F. (1994). *Dormición de semillas*. Ed. Trillas. México. P. 9,13.
- Campbell, D. T., y Stanley, J. C. (1966). *Experimental and cuasiexperimental design for research*.
Chicago: rand mcnally (traducido al castellano como diseños experimentales y
cuasiexperimentales en la investigación social. Buenos aires: Amorrortu, 1973).
- Charuc Chip, Juan Francisco, (2016). *Evaluación de métodos de escarificación en semillas de
pacaína (chamaedorea sp); chimaltenango*. Tesis de pregrado en ciencias ambientales y
agrícolas de la universidad Rafael Landívar, Guatemala. 76 p. Disponible en:
<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2016/06/14/charuc-juan.pdf>.
- Clarence M. Rincket, (1954). *Effect of Heat on Impermeable Seeds of Alfalfa, Sweet Clover, and
Red Clover*. Agronomy Journal. Vol. 46, N° 06, Published June, 1954.
- Contreras Quiroz, Mariana Del Rocío. (2012). *Germinación de semillas de especies nativas de los
pastizales del altiplano del norte de México*. Tesis de magister en ciencias forestales.
Colegio de post grado de la universidad autónoma de nuevo león. 65 p. Disponible en:
<https://cd.dgb.uanl.mx/handle/201504211/5047>.
- Creswell John W. (2009). *Diseño de Investigación; Métodos Cualitativo, Cuantitativo y Mixto*.
Los Ángeles London. New Delhi. Singapore Printed in United States of America.
- Diaz Sanjuan, Lidia. (2011). *La observación, textos de apoyo didáctico*. Facultad de Psicología,
Universidad Nacional Autónoma de México. Pag, 18 – 20.

Ernest V Y Staker, (1925). *The effect of dry heat on alfalfa seed and its adulterants*. Published January, journal of the american society of agronomy, p 1 – 9.

FAO, (2006). *Sistema de semillas de calidad declarada*. Roma, Italia.

FAO., (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales*. Roma, Italia. En línea disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/ad232s/ad232s00.htm#toc>.

Ferrer Jesús, (2010). *Conceptos básicos de Metodología de La Investigación*, sección 02 de higiene y seguridad industrial recuperado de: <http://metodologia02.blogspot.mx/p/tecnicas\de\la\investigacion.html>

Fracica N., G. (1988). *Modelo de simulación en muestreo*. Bogota: universidad de la sabana.

Goodnight James, Sall John y Barr Tony, (1976). *SAS statistical analysis systems (sistemas de análisis estadístico)*. Institute (Norway), Data software, Inteligencia empresarial. Cary, Carolina del Norte, Estados Unidos.

García, R. (2006). *Evaluación de productos orgánico-hormonales que estimulan la germinación en semilla de cebada (*hordeum vulgare l*)*. Tesis ing. Agron. Buenavista, saltillo, Coahuila, México. Facult. De agronomía. Pag 1 – 79.

Guerra Negrete Luis Alfredo y Montoya Urango Neider, (2013). *Evaluación de la capacidad de germinación de la semilla del abarco (*cariniana pyriformis*) en la subregion del Urabá*. Tesis de pregrado en ingeniería forestal de la universidad nacional abierta y a distancia – unad, Colombia. 35 p. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/unad.php?url=/bitstream/10596/2403/1/8322692.pdf>.ista, 1999. International rules for seed testing. Seed science and technology, 27, supplement, 1-333.

Hall John W, et al., (1997). *Alfalfa seed germination tests and stand establishment: The role of hard (water impermeable) seed*. Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Pacific Agri-Food Research Centre, Summerland, British Columbia, Canada V0H 1Z0.

Hartman, T.; Kester, E. (1997). *Propagación de plantas: principios y prácticas*. 1 edic. Edit. Continental s.a de c.v. México. 176 p.

Hernández, F. E. (2010). *Métodos de escarificación y prueba de envejecimiento acelerado en semillas de brachiaria brizantha c.v. Insurgente*. Tesis maestra en ciencias. Montecillo, México: colegio de posgraduados, institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. 59 p.

Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. (2014). *Metodología de la investigación*. 6a ed. México: mcgraw-hill.

Hinojosa Benavides, René Antonio y Vásquez Molina, Mirtha; (2015). *Influencia del número de horas de remojo sobre la tasa de germinación de semillas nativas de avena y cebada, mediante el cultivo hidropónico*. Lircay – Huancavelica, 2015. 3 p. Disponible en: <http://repositorio.udea.edu.pe/handle/123456789/7>

ISTA, (1999). *International rules for seed testing*. Seed science and technology, 27, supplement, 1-333.

ISTA, (2016). *The international seed testing association*, Zürichstr. 50, ch-8303 bassersdorf, suiza. Online issn 2310-3655. 192 pag.

Jany E., J. N. (1994). *Investigación integral de mercados*. Bogota: mcgraw-hill.

José M. Herranz, Pablo Ferrandis y Juan J. Martínez Sánchez, (1998). *Influence of heat on seed germination of seven mediterranean leguminosae species*. Department plant production & agricultural technology, e.t.s.i. agrónomos, university of castillala mancha, campus universitario s/n, 02071 albacete, spain. *Plant ecology* 136: 95–103. 2 p. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/a:1009702318641>.

Mcdonald Do. K. (2002). La germinación respuesta a la temperatura en zonas tropicales y subtropicales leguminosas forrajeras. 1. Temperatura constante. Publicado por csiro publishing para el comité permanente sobre agricultura y gestión de recursos (scarm), volumen 42, collingwood, vic. 3066, Australia. 14 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/journal/08161089_australian_journal_of_experimental_agriculture.

Mendoza Jarquín Carlos Fernando, (2007). *Evaluación de las condiciones requeridas para la germinación y métodos de interrupción de dormancia en semillas de echinochloa colona (l.) Link, para su posible manejo ecológico*. Tesis de pregrado de agronomía. Universidad nacional de agraria. Nicaragua. 42 p. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/2029/>.

Mérola Rubén Y Díaz Saulo, (2012). *Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras*. Trabajo final presentado como requisito del curso de postgrado “Producción de semillas de plantas forrajeras”, Montevideo – Uruguay. Pag 20 – 25.

Montilla et al. (2017). *Tratamientos pregerminativos en semillas de moringa y su efecto en variables agronómicas, pastos y forrajes*, vol. 40, no. 3, julio-septiembre, 188-194, 2017,

- universidad nacional experimental Rómulo gallegos, Guárico, Venezuela. 7 p. disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0864-03942017000300003.
- Moreno. M. F. (1996). *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. Universidad nacional autónoma de México. P. 345.
- Murillo, W. (2008). La investigación científica. Consultado el 18 de abril de 2008 de <http://www.monografias.com/trabajos15/investcientífica/investcientífica.shtm>.
- Olisa B.S. et al., (2010). *Imbibition and Response of pigeon pea (cajanus cajan L. mil sp.) and african yam vean (Sphenostylis stenocarpa (Hochst. Ex a. Rich) Harms) seeds to scarification*. Academic Journals inc. Research Journal of seed Science 3 (3): 150 – 159, ISSN 1819 – 3552, Seed Science Laboratory, department of crop Production and protection, faculty of agriculture, Obafemi Awolowo University, Ile – Ife, Nigeria.
- Oliveira Prendes J.A., E. Afif Khouri Y J. Ortiz García, (2007). *Evaluación de un método de escarificación mecánica en la germinación de semillas de leguminosas pratenses, departamento de biología de organismos y sistemas. Universidad de oviedo. Mieres (España)*. 15 p. Disponible en: <http://polired.upm.es/index.php/pastos/article/view/1336/1340>.
- Ordoñez, L; Arbeláez, M; Prado, L. (2004). *Manejo de semillas forestales nativas de la sierra del ecuador y norte del Perú*. Edit. E. Copar, fosefor. Pág. 153.
- Padilla, M. (1995). *Tratamientos pregerminativos para semillas forestales. In curso nacional de recolección y procesamiento de semillas forestales (i., 1995, Guatemala)*. Memoria. Guatemala. Catie.

- Patiño, F.; De La Garza, P.; Villagómez, Y.; Talavera, I. Y Camacho, F. (1983). *Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. México d.f.* instituto nacional de investigaciones forestales. Subsecretaría forestal. Boletín divulgativo n° 63. 181 pp.
- Pérez, A. (2008). *Evaluación de doce métodos de escarificado en semillas de chonte (zanthoxylum aguilarii) y canoj (ocotea guatemalensis) en el asintal, retalhuleu.* Tesis ing. Agr. Quetzaltenango, Guatemala, url 126 p.
- Pérez Pérez, Claudia Joceline, (2007). *Germinación de semillas de mimosa aculeaticarpa var. Biuncifera (benth) barneby (fabaceae).* Tesis de pregrado en biología universidad autónoma del estado de hidalgo – México. 33 p. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s187034532011000200023.
- Pipinis et al, (2010). *Effect of acid scarification and cold moist stratification on the germination of cercis siliquastrum l. Sedes. Department of forestry and management of the environment and natural resources, democritus university of thrace, pandazidou 193, 68200 orestiada – Greece.* Doi:10.3906/tar-1003-848, 6 p. Disponible en: <http://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/issues/tar-11-35-3/tar-35-3-5-1003-848.pdf>.
- Robert E. Martin, Robert L. Miller, And Charles T. Cushwa, (2014). *Germination response of legume seeds subjected to moist and dry heat, source: ecology, vol. 56, no. 6 (autumn, 1975), pp. 1441-1445.* 6 p. Disponible en: <http://www.jstor.org/page/info/about/policies/terms.jsp>.
- Rodríguez, C.C.; Eguiarte, J.A.; Hernández, F., 1985. *Evaluación de diferentes métodos prácticos de escarificación en semillas de leucaena leucocephala Lam., en condiciones de trópico*

- semiseco*. Técnica pecuaria en México, 48, 24-29. Disponible en: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php>
- Rostami A.A. And Shasavar A. (2009). *Effects of seed scarification on seed germination and early growth of olive seedlings*. *Journal of Biological Sciences* 9 (8): 825 – 828, ISSN 1727 – 3048, Asian Network for Scientific Information, deártment of Horticultura Science, Shiraz University, Shiraz – Iran.
- Rutar R., Stjepanovic M., Popovic S., Bukvic Z., Pacek D. (2001). *Effect of temperatura on germination and hard alfalfa seed*. In: Delgado I. (ed.), Lloveras J. (ed.). *Quality in lucerne and medics for animal production*. Zaragoza: CIHEAM, 2001. p. 1 37 -1 39 (Option s Méditerran éen n es: Série A. Sémin aires Méditerran éen s; n. 45).
- Sánchez–Paz Y. Y M. Ramírez-Villalobos, (2006). *Tratamientos pregerminativos en semillas de leucaena leucocephala (lam.) De wit. Y prosopis juliflora (sw.) Dc*. *Rev. Fac. Agron. (luz)*. 2006, 23: 257-272. 16 p. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php>.
- Scharager, J Y Armijo, I. (2001). *Metodología de la Investigación para las Ciencias Sociales* [CD-ROM]: Versión 1.0 Santiago: Escuela de Psicología, SECICO Pontificia Universidad Católica de Chile. Programa computacional.
- Sierra, P. J. (2002). *Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros*. Editorial Universidad de Antioquia. 300 p. Medellín.
- Spedding, C. R. W and Diekmahns, E. C. (1972). *Grasses and legumes en british agriculture commonwealth bureau of pastures and field crops bulletin* 49. Pág. 511.

- Stanisavljevic, Rade et al., (2018). *La aplicación de los tratamientos de temperatura antes que las opciones de siembra mejorar la calidad de la alfalfa*. Artículo científico original. Instituto para la Protección de las Plantas y Medio Ambiente, Dražera 9, Belgrado, 1821-4487 (2018) 22; 2; p 76-79.
- Steinbauer George, (1926). *Differences in resistance to low temperatures Shown by clover varieties*. Minnesota agricultural experiment station, university of minnesota, st. Paul, Minnesota.
- Theodore, W; Helms, J; Backer, F. (1982). *Principios de silvicultura*. 2 edic. Edit. Mcgraw-hill latinoamericana. México. 492 p.
- Travlos, I.S. Y Economou G, (2006). *Optimization of seed germination and Seedling emergence of Medicago arborea L*. International Journal of Botany 2 (4): 415 – 420, ISSN 1811 – 9700, Asian Network for Scientific Information. Laboratory of Agronomy, department of crop Production, agricultural university of Athens, 75 Iera – Grecia.
- Trujillo, E. (1996). *En el curso nacional "recolección y procesamiento de semillas forestales"*. Campus de adefor (8 - 10 oct. 1996). Adefor, rasefor, intercoporation, conifiinsefor. Cajamarca- Perú. 76 p.
- White, R., Murray, S., Rohweder, M. (2000). *Pilot analysis of global ecosystems: grassland ecosystems*. World resources institute. En línea disponible en: <http://www.wri.org/wri>.
- Vázquez, Y. et al. (1997). *Semillas*. 1 edic. Edit. Fondo de cultura económica s. R. México, df. 250 p.

ANEXOS 1

Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Método
<p>¿Cuál es el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350?</p>	<p>Objetivo general.</p> <p>Determinar el efecto de la escarificación física en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Determinar el efecto de la inmersión en agua fría por diferentes tiempos en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p> <p>Determinar el efecto de la inmersión en agua a diferentes temperaturas en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p> <p>Determinar el efecto de la interacción de inmersión en agua fría y a diferentes temperaturas en la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p>	<p>Ho: La escarificación física tendrá efecto sobre la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p> <p>Hi: La escarificación física no tiene efecto sobre la germinación de semilla de alfalfa variedad AGP 350.</p>	<p>Variable dependiente.</p> <p>Germinación de semillas</p> <p>Variable independiente.</p> <p>escarificación física:</p> <p>Tiempos de remojo.</p> <p>Temperaturas.</p>	<p>Tipo de investigación: Aplicada.</p> <p>Nivel de investigación: Experimental.</p> <p>Método de investigación: Científica.</p> <p>Diseño de investigación: Experimental.</p> <p>Diseño estadístico: Se utilizará un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 4 X 4 con 5 repeticiones por tratamiento.</p> <p>Modelo aditivo lineal</p> $Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + (TE)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ <p>Población: 14 250kg de semilla.</p> <p>Muestra: 240g.</p> <p>Muestreo: no probabilístico de tipo intencional.</p> <p>Técnica:</p> <p>la observación</p> <p>Instrumentos de recolección de datos.</p> <p>Registro de observación.</p>

Anexo 2. Base de datos.

T = (°C)	T. R. (min)	Repet.	Germin. (%)
10	0	1	83
10	0	2	91
10	0	3	90
10	0	4	86
10	0	5	88
10	10	1	88
10	10	2	89
10	10	3	89
10	10	4	91
10	10	5	89
10	20	1	80
10	20	2	79
10	20	3	85
10	20	4	79
10	20	5	80
10	30	1	83
10	30	2	84
10	30	3	86
10	30	4	89
10	30	5	85
20	0	1	82
20	0	2	78
20	0	3	78
20	0	4	83
20	0	5	80
20	10	1	86
20	10	2	91
20	10	3	90
20	10	4	87
20	10	5	89
20	20	1	80
20	20	2	82
20	20	3	79
20	20	4	79
20	20	5	80
20	30	1	90
20	30	2	85
20	30	3	78
20	30	4	81
20	30	5	84

T = (°C)	T. R. (min)	Repet.	Germin. (%)
30	0	1	96
30	0	2	90
30	0	3	94
30	0	4	90
30	0	5	93
30	10	1	78
30	10	2	81
30	10	3	86
30	10	4	86
30	10	5	85
30	20	1	83
30	20	2	82
30	20	3	80
30	20	4	81
30	20	5	82
30	30	1	83
30	30	2	84
30	30	3	84
30	30	4	78
30	30	5	82
40	0	1	96
40	0	2	95
40	0	3	83
40	0	4	88
40	0	5	90
40	10	1	79
40	10	2	85
40	10	3	79
40	10	4	88
40	10	5	83
40	20	1	80
40	20	2	90
40	20	3	85
40	20	4	85
40	20	5	83
40	30	1	85
40	30	2	90
40	30	3	87
40	30	4	88
40	30	5	85

Anexo 3. Supuestos de varianza, tablas y figura de análisis de varianza.

Supuestos de varianza para los diferentes tiempos de remojo

Prueba de Normalidad Kolmogorov - Smirnov

p-value = 0,092

Prueba de Homogeneidad de Varianza Bartlett.

p-value = 0.058

Supuestos de varianza para las temperaturas

Prueba de Normalidad Kolmogorov - Smirnov

p-value = 0,124

Prueba de Homogeneidad de Varianza Bartlett.

p-value = 0.782

Análisis de Varianza (ANOVA)

Tabla 1A. Análisis de varianza con los factores de Temperatura y Tiempo de Remojo y la Interacción de T x TR.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Temperatura (T)	3	95,422	31,807	2,55	0,0670NS
Tiempo de remojo (TR)	3	313,422	104,474	8,36	0,0001**
Interacción (T * TR)	9	502,391	55,821	4,47	0,0003**
Error	64	599,750	12,495		
Total, corregido	79	1510,984375			

$r^2 = 0,603$; C.V. = 4,159; * = (p<0,05); ** = (p<0,01) ns = No Significativo

Tabla 2A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 0 min de tiempo de remojo con diferentes temperaturas.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	345,687	115,229	6,85	0,0061
Error	16	201,750	16,813		
Total, corregido	19	547,437			
R ² = 0,631					
C.V. = 4,676					

Tabla 3A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 10 min de tiempo de remojo con diferentes temperaturas.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	139,687	46,563	3,38	0,0543
Error	16	165,250	13,771		
Total, corregido	19	304,938			
R ² = 0,458					
C.V. = 4,318					

Tabla 4A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 20 min de tiempo de remojo con diferentes temperaturas.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	48,750	16,250	2,10	0,1541
Error	16	93,000	7,750		
Total, corregido	19	141,750			
R ² = 0,344					
C.V. = 4,410					

Tabla 5A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 30 min de tiempo de remojo con diferentes temperaturas.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	63,688	21,232	1,82	0,1966
Error	16	139,750	11,646		
Total, corregido	19	203,438			
R ² = 0,313					
C.V. = 4,029					

Tabla 6A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 10°C de temperatura con diferentes tiempos de remojo.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	171,688	57,229	7,17	0,0051
Error	16	95,750	7,979		
Total, corregido	19	267,438			
R ² = 0,642					
C.V. = 3,297					

Tabla 7A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 20°C de temperatura con diferentes tiempos de remojo.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	188,188	62,729	6,03	0,0095
Error	16	124,750	10,396		
Total, corregido	19	312,938			
R ² = 0,601					
C.V. = 3,881					

Tabla 8A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 30°C de temperatura con diferentes tiempos de remojo.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	316,250	105,417	10,59	0,0011
Error	16	119,500	9,958		
Total, corregido	19	435,750			
R ² = 0,723					
C.V. = 3,718					

Tabla 9A. Análisis de Varianza de comparación de medias de germinación de semilla de alfalfa para 40°C de temperatura con diferentes tiempos de remojo.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	P-Valor	Pr > F
Modelo	3	139,688	46,563	2,15	0,1470
Error	16	259,750	21,646		
Total, corregido	19	399,438			
R ² = 0,350					
C.V. = 5,390					

Conteo de germinación a los 4 días

T = (°C)	T. R. (min)	Repet.	Germin. (%)
10	0	1	80
10	0	2	85
10	0	3	80
10	0	4	80
10	0	5	75
10	10	1	77
10	10	2	80
10	10	3	77
10	10	4	63
10	10	5	82

T = (°C)	T. R. (min)	Repet.	Germin. (%)
30	0	1	90
30	0	2	80
30	0	3	86
30	0	4	87
30	0	5	86
30	10	1	74
30	10	2	69
30	10	3	75
30	10	4	79
30	10	5	84

10	20	1	75
10	20	2	65
10	20	3	76
10	20	4	50
10	20	5	67
10	30	1	78
10	30	2	65
10	30	3	82
10	30	4	64
10	30	5	62
20	0	1	79
20	0	2	60
20	0	3	68
20	0	4	75
20	0	5	76
20	10	1	80
20	10	2	85
20	10	3	88
20	10	4	73
20	10	5	86
20	20	1	72
20	20	2	78
20	20	3	65
20	20	4	72
20	20	5	75
20	30	1	88
20	30	2	80
20	30	3	68
20	30	4	70
20	30	5	80

30	20	1	71
30	20	2	60
30	20	3	77
30	20	4	74
30	20	5	78
30	30	1	74
30	30	2	78
30	30	3	76
30	30	4	84
30	30	5	71
40	0	1	78
40	0	2	80
40	0	3	80
40	0	4	84
40	0	5	81
40	10	1	77
40	10	2	81
40	10	3	88
40	10	4	77
40	10	5	81
40	20	1	75
40	20	2	80
40	20	3	81
40	20	4	70
40	20	5	76
40	30	1	80
40	30	2	82
40	30	3	83
40	30	4	85
40	30	5	80

Anexo 4. Panel fotográfico.

Foto N° 01. Bloque de semillas adquiridas por Agro Rural – Huancavelica.



Foto N° 02. Adquiriendo muestras de semilla en el almacén de Agro Rural – Huancavelica.



Foto N° 03. Muestras de semillas de alfalfa.



Foto N° 04. Mezclando todas las muestras de semilla para realizar el conteo de 100 semillas para cada unidad experimental.

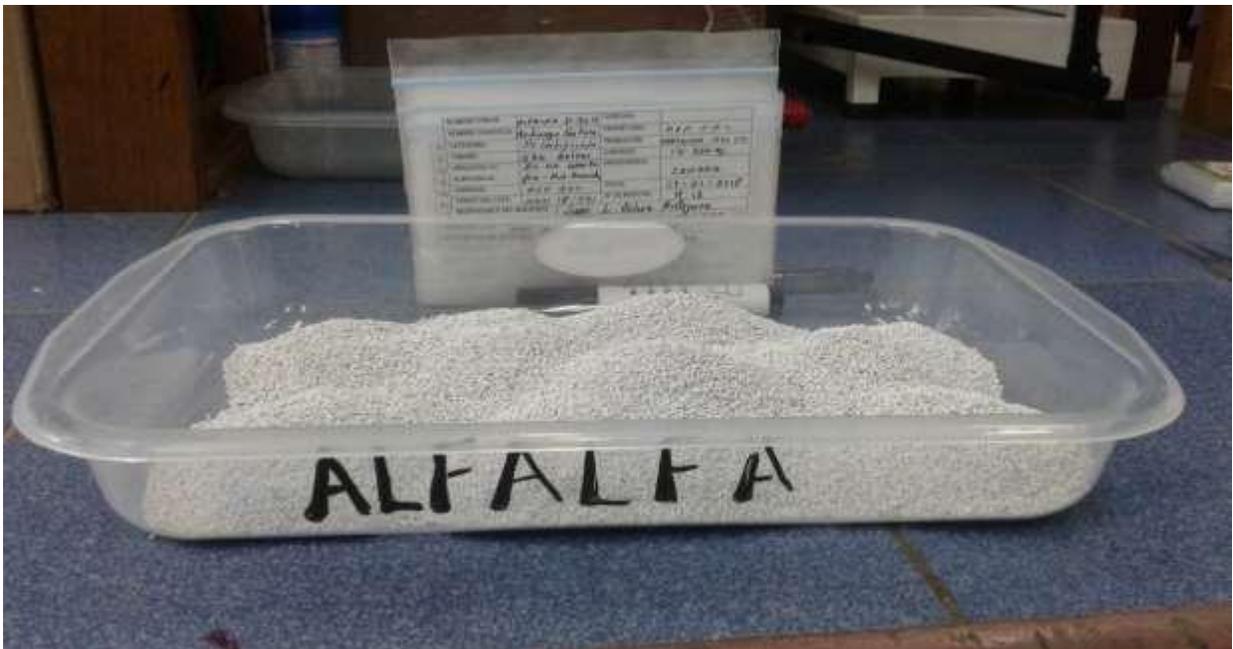


Foto N° 05. Bolsitas con 100 semillas cada una.



Foto N° 06. Semillas en los vasos para luego ser puestos a diferentes temperaturas y tiempos de remojo.



Foto N° 07. Colocando las semillas en el papel filtro.



Foto N° 08. Semillas listas para introducir en la refrigeradora para el pre – enfriamiento.



Foto N° 09. Muestras en la incubadora a 20°C.



Foto N° 10. Semillas que germinaron.



Foto N° 11. Realizando el conteo de semillas germinadas.



Foto N° 12. Visita del ing. De Agro Rural - Huancavelica.

