

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Académico Profesional de Agronomía



RESPUESTA DE LA SEMILLA DE VALERIANA (*Valeriana pilosa* Ruiz & Pav.) A TRES TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

Presentado por el Bachiller:
JUAN CARLOS MEDINA TELLO

ASESOR:

DR. JUAN FRANCISCO SEMINARIO CUNYA

CAJAMARCA – PERÚ

Octubre 2017

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación lo dedico a Dios, fuente de toda sabiduría, quien me cuidó y guió siempre por el buen camino y además de darme las fuerzas para seguir adelante y cumplir con los objetivos personales trazados.

A mis padres Elías Medina Caruajulca y María Reina Tello Villacorta, quienes son mi mayor ejemplo a seguir, por su apoyo incondicional durante toda mi formación personal y profesional

A mis hermanos Rosa, Fredegundo, Graciela, Saúl y Liliana por su apoyo, comprensión y su amor, por ayudarme a lograr mis objetivos.

EL AUTOR

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la vida, la salud, la sabiduría y las múltiples bendiciones recibidas día a día.

A mi asesor Dr. Juan Francisco Seminario Cunya, por su apoyo, tiempo, dedicación y paciencia, en la ejecución de mi trabajo de investigación.

A mi amigo Misael Humberto Valdez por su apoyo y colaboración en el desarrollo de la tesis.

A todos los docentes de la universidad Nacional de Cajamarca y a la Escuela Académico Profesional de Agronomía y a todos los docentes que durante mis años de estudio me inculcaron buenas enseñanzas tanto para la vida laboral y personal.

EL AUTOR

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta de la semilla de *V. pilosa* a los tratamientos pregerminativos de hipoclorito de sodio, ácido giberélico y oscuridad. La germinación se realizó en placas Petri con papel absorbente humedecido, con semillas de 5 y 6 meses poscosceha. En el primer ensayo se usó hipoclorito de sodio a 1 %, 2 % y 3 %, con tiempos de remojo de 5, 10 y 15 minutos, respectivamente, y como control se usó agua destilada. En el segundo ensayo, se usó ácido giberélico a 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm, con tiempos de remojo de 24, 48, 72 y 96 horas, para cada caso y, como control se usó agua destilada. En el tercer ensayo se colocaron las placas que contenían a las semillas hidratadas en completa oscuridad y el mismo número de placas con semillas a luz de laboratorio. En el primer y segundo ensayo se usó el diseño completamente al azar con tres repeticiones y para el tercer ensayo se realizó 6 repeticiones, se evaluó el porcentaje de germinación. Se encontraron diferencias significativas para la interacción de concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de remojo, y para el contraste de la interacción con el testigo. Las mejores combinaciones fueron 2 % de hipoclorito más 5 y 10 minutos de remojo (67 % y 63 % de germinación, respectivamente). No se encontró significación estadística para los factores ácido giberélico y tiempo de remojo, para la interacción, ni para el contraste de la interacción con el testigo. Se encontró significación estadística para los factores oscuridad y luz y el mejor tratamiento fue con luz (47 % de germinación).

Palabras claves: *valeriana*, hipoclorito de sodio, ácido giberélico, oscuridad.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las plantas son un recurso natural muy importante de la flora del mundo. Desde hace miles de años, el hombre ha utilizado este recurso como fuente de diversos factores, entre ellos, alimento y medicina (Arias 2013).

Las plantas medicinales son muy importantes como base de la medicina tradicional en las zonas altoandinas y ciudades. En el Perú, la mayor parte de estas plantas medicinales se recogen del medio natural, en función de la demanda del mercado y de las necesidades de las familias rurales, sin considerar la sostenibilidad del recurso (Ramírez *et al.* 2006). En este sentido, es importante emprender actividades dirigidas a la conservación y el uso sostenible de estos recursos (Seminario *et al.* 2016).

En los Andes del Norte peruano existe una gran biodiversidad de especies medicinales, entre ellas, se encuentra *Valeriana pilosa* R & P (valeriana). Esta es una hierba anual y perenne, explotada con fines económicos, sin medir las consecuencias de su depredación y el tiempo que demora para su regeneración (Sánchez 2011).

La Valeriana (*Valeriana pilosa*) es colectada en la Jalca de Cajamarca y su demanda se ha incrementado por las propiedades medicinales que presentan en sus raíces y rizoma. Se conoce poco sobre la biología de la planta en su hábitat natural, las formas de propagación, el rendimiento de la parte cosecharle y las condiciones que favorecen y limitan su desarrollo. Estos conocimientos son necesarios para promover su cultivo, propiciar su conservación y uso sostenible.

En estudios realizados con semilla recolectada, se reporta que el porcentaje de germinación en condiciones de laboratorio es bajo. Ramírez *et al.* (2006) reporta 40% de germinación. Por su parte Rumay (2010) encontró entre 40 y 47 % de germinación y Valdez (2017) encontró 61 % con AG₃ a 1200ppm durante 72 horas. Estos resultados indican que probablemente existen factores internos y

externos de la semilla que dificultan la germinación. Por este motivo es necesario continuar investigando sobre los factores que podrían afectar el proceso de germinación.

Como en toda actividad económica se debe conseguir que el cultivo de cultivo de valeriana resulte rentable para el productor. Para ello, es necesario el conocimiento de las condiciones que requiere el cultivo y los factores que afectan su desarrollo desde la semilla, aspectos sobre los cuales existe muy poca información. Es necesario realizar estudios para subsanar este vacío de información para poder afrontar el cultivo con mejores perspectivas.

El presente trabajo estuvo orientado a conocer la respuesta de las semillas de valeriana a tratamientos pregerminativos con ácido giberélico (AG₃), hipoclorito de sodio (NaClO) y, oscuridad por un periodo de 30 días. Estos ensayos se plantean con base en los antecedentes registrados por la literatura para *Valeriana officinalis*, especie europea muy afín a la *V. pilosa*. Según Dini (2013), el AG₃ muestra efectos significativos en la germinación de semillas de *Valeriana officinalis*.

El hipoclorito de sodio se ha empleado en tratamientos pregerminativos de *Valeriana pilosa* y tendría efecto en el ablandamiento de las cubiertas y a la vez, como desinfectante (JBSM 2002, Hartman y Kester 1980).

Por otro lado, se ha demostrado que la oscuridad tiene efecto positivo en la germinación de *V. officinalis*, así Muñoz (2002) menciona que semillas sometidas a 20 días de oscuridad, y a temperatura ambiente alcanzan hasta 65 % de germinación.

1.3. Objetivos.

Objetivo general

- Evaluar la respuesta de la semilla de *V. pilosa* a los tratamientos pregerminativos con hipoclorito de sodio (a las concentraciones de, 1 %, 2 % y 3 % y con tiempos de remojo de 5, 10 y 15 minutos), ácido giberélico (a las concentraciones de 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm y con tiempos de remojo de 24, 48, 72 y 96 horas) y oscuridad.

Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de germinación de semillas de valeriana usando hipoclorito de sodio a las concentraciones de 1, 2 y 3 % y con tiempos de remojo de 5, 10 y 15 minutos.
- Determinar el porcentaje de germinación de semillas de valeriana usando AG3 en las concentraciones de 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm y con tiempos de remojo de 24, 48, 72 y 96 horas.
- Determinar el porcentaje de germinación de semillas de valeriana en oscuridad.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la investigación.

Con el propósito de encontrar métodos de propagación sexual, el Jardín Botánico José Celestino Mutis (JBJCM) de Colombia realizó pruebas de germinación en *V. pilosa* y los resultados que reportan son los siguientes: el máximo porcentaje de germinación fue del 30 % en aproximadamente 75 días, para este ensayo utilizaron semillas maduras y tierra como sustrato. En cambio, con semillas verdes (vilano cerrado), en tierra, la germinación fue de 25 % (Córdoba 2007).

En el “Protocolo In Vitro de Colombia 2008 – 2011”, se indica que se realizaron pruebas de germinación, en cultivo in vitro, de *V. pilosa* en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Subdirección Científica del JBJCM y se encontró hasta 25 % de germinación con semillas seleccionadas y de pocos días de recolectadas (JBJCM 2011).

En la región Cajamarca, existen trabajos relacionados con germinación de valeriana como el “ensayo de cinco formas de manejo de valeriana en Huanico”. En dicha investigación, se realizaron pruebas de germinabilidad en condiciones de laboratorio, en las cuales, se usaron semillas sin seleccionar de 1, 3, 5 meses de recolectadas. Los resultados fueron, 39.7 % para las semillas, de 1 y 5 meses y del 47 % para 3 meses. En cambio para con semillas seleccionadas por su tamaño, se encontró hasta 63 % de germinación (Rumay 2010).

En la investigación “Etnobotánica de la Valeriana en la jalca de Cajamarca - Perú”, Ramírez *et al.* (2006) encontraron que el porcentaje de emergencia de plántulas, con semillas no seleccionadas, de 1 mes de colectadas alcanzo el 40 %.

En estudios recientes sobre germinación de semillas de valeriana de tres edades postcosecha (2 meses, 4 meses y 7 meses), se reporta que las semillas de 4

meses de edad postcosecha presenta un alto porcentaje de germinación (79 %) y utilizando ácido giberélico en tres concentraciones diferentes (400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm) y cuatro tiempos de remojo (24h, 48h, 72h y 96h) no se encontró diferencias significativas en cuanto al porcentaje de germinación, el mayor porcentaje alcanzado fue de 60 % (Valdez 2017).

En el “Estudio de dos tratamientos pregerminativos en la germinación de *V. officinalis*”, en el cual se utilizó ácido giberélico (AG₃) a 400 ppm, 800 ppm, y 1600 ppm, durante 72, 144, y 216 horas de remojo y a 4°C, se encontró que el mejor resultado (81.4 % de germinación) se produjo con 800 ppm y de 72 horas de remojo y el porcentaje de germinación más bajo fue de 46.49 %, con 400 ppm de AG₃ y 72 horas de remojo (Dini 2013).

Por otro lado, Muñoz (2002) menciona que la semilla seleccionada de *V. officinalis* alcanza hasta 65 % de germinación, bajo condiciones controladas con 16 a 20 días de oscuridad y temperatura ambiente de 20°C.

2.2. Bases teóricas.

2.2.1. El problema de las plantas medicinales silvestres.

En Perú, la mayor parte de las plantas medicinales que se comercializan en los mercados son silvestres, las cuales se recolectan según la demanda del mercado y las necesidades de los recolectores. Los estudios de Bussman y Sharon (2009 a) y Bussman y Sharon (2009 b) realizados en los mercados del norte peruano indican que en los últimos años, la demanda y el número de vendedores de plantas medicinales ha crecido, pero no ha crecido su cultivo en los huertos familiares. Esta situación conlleva a dos situaciones contradictorias, por un lado ayuda a mantener las prácticas tradicionales y el conocimiento tradicional y, por otro lado, puede significar una seria amenaza por la sobrercolección de especies importantes.

2.2.2. Descripción de la familia Valerianaceae.

Para Ramírez *et al.* (2004) las Valerianáceas son plantas herbáceas con hojas opuestas, por lo general pinnatífidas (pero también las hay simples o enteras), sin estipulas, de flores bracteadas, dispuestas en cimas dicotómicas o solitarias en las bifurcaciones de las ramitas con el fruto seco e indehiscente, siempre con una sola semilla.

Según Arias (2013), la valeriana pertenece a la familia de las Caprifoliáceas y la describe como plantas dioicas, ginodioicas; con hojas opuestas, decusadas, simples; pecioladas, con estipulas ausentes. Inflorescencias cimosas, comúnmente un tirso compacto, o un dicasio simple o compuesto, flores irregulares; cáliz obsoleto modificado, comúnmente dividido en numerosos segmentos plumosos que persisten cuando se transforma en fruto. Tienen corola simpétala, rotácea a infundibuliforme, frecuentemente gibosa o espolonada, con cinco lobos imbricados; de uno a cuatro estambres epipétalos, alternos con los lobos de la corola, anteras con dos tecas, dehiscentes longitudinalmente; ovarios ínfero, 3-carpelar, con dos lóculos estériles y uno fértil, este con un óvulo sencillo, pendiente, anátropo, un estilo, tres estigmas. El fruto es un aquenio.

2.2.3. Origen y distribución geográfica de la familia Valerianaceae.

Mejía *et al.* (2005), mencionan que la familia Valerianaceae tiene alrededor de 13 géneros y 300 especies, cercanos cosmopolitas en su distribución. Sin embargo se desarrolla mejor en las regiones Norte Templadas y en los andes de Sudamérica. Cerca de las dos terceras partes de las especies pertenecen a un único género, *Valeriana* y, las restantes a *Varianella*. En el Perú, *Valeriana pilosa* se encuentra en los departamentos de Ancash, Junín, San Martín y Cajamarca (Brako y Zarucchi 1993).

Según Ramírez *et al.* (2006) *Valeriana pilosa* se encuentra desde los 3500 hasta los 4200 msnm; sin embargo, puede encontrarse con menor frecuencia desde los 3200 msnm hacia arriba. Esta especie habita en suelos característicos de la jalca, con abundante materia orgánica, de colores oscuros, turbosos y

musgosos, también se encuentran en suelos pocos profundos e incluso entre rocas; esta especie se encuentra tanto en áreas secas como en áreas húmedas con buen drenaje.

Seminario *et al.* (2010), menciona que *Valeriana pilosa* es una planta silvestre y se caracteriza por ubicarse en áreas relativamente pequeñas, concentrándose en manchales de formas y tamaños muy variables. Se encuentra muy espaciada dentro praderas y pajonales de la jalca.

Sánchez (2011), indica que esta especie es típica de la biodiversidad vegetal de las zonas de Jalca, la encontramos espaciada y dispersa dentro de las praderas y pajonales de la jalca, asociada frecuentemente con el ichu o hualte (*Calamagrotis tarmensis*) y Chimchimali (*Gentianella graminea*).

2.2.4. Características botánicas de *Valeriana pilosa*

Según Ramírez *et al.* (2006), *V. pilosa* es una planta herbácea, perene, de habito arrosetado, el tamaño de la planta varía de 10 cm hasta 60 cm de altura. Según Córdoba (2007) esta planta puede llegar a medir hasta 70 cm de altura. Presenta hojas en una roseta basal, simples; la lámina de la hoja es lanceolada subcoriácea, en la parte superior glabra o pilosa, en la parte inferior glabra o pilosa (Córdoba 2007). Estas hojas son lanceoladas, enteras con vellosidades al borde de los peciolo y en las nervaduras principales, miden de 10 a 15 cm de longitud por 0.7 a 1.7 cm de ancho. La base es un poco decurrente hacia el peciolo (Ramírez *et al.* 2006).

El tallo es simple o ramificado de 2-5 cm de diámetro, de la cual nacen las hojas y con una gran cantidad de yemas vegetativas que originan gran cantidad de hijuelos (Seminario *et al.* 2016). Presenta escapo floral piloso con entrenudos desarrollados (Sánchez 2011).

La raíz es pivotante, alargada, es la parte más importante desde el punto de vista medicinal, a veces se halla un número considerable, es de color amarillento. En

estado fresco la raíz es ligeramente amarga, pero en estado seco el olor es característico. Esta puede alcanzar hasta 25 cm de longitud, con un grosor variable aproximadamente de 1 a 3 centímetros (Rumay 2010).

Las flores presentan un aroma fragancioso, son gibosas de 2 a 3 mm de longitud la corola presenta 5 lóbulos, 3 estambres diatésicos con dehiscencia longitudinal y con un pistilo alargado que casi alcanza la misma altura que los estambres (Ibérico y Pajares 2007).

Según Córdoba (2007), la inflorescencia es una cima del tipo paniculoide. Además, el eje principal es piloso; de la inflorescencia es piloso y presenta de 1 a 3 pares de hojas sésiles. Presenta dos tipos de flores, pistiladas y perfectas de color blancas, a menudo teñida de purpura, glabra.

Cada inflorescencia, produce abundante semilla. En inflorescencias tomadas después de finalizada la floración, se encontraron en promedio, 866 semillas (rango de 725 hasta 1089) por inflorescencia (Seminario *et al.* 2016).

Las semillas de esta especie son un medio de propagación en campo. Estas son del tipo exalbuminosas, el albumen de estas semillas desaparee, en beneficio de los cotiledones, en los cuales se concentran las reservas nutritivas para luego suministrar alimento a la pequeña plántula (Seminario 1993).

Las semillas exalbuminosas son aquellas que contienen las reservas nutritivas en los cotiledones. Producto de las sustancias que guardan, los cotiledones sufren modificaciones en su conformación volviéndose por ejemplo más carnosos o más tiernos (Mader 2008).

Las semillas de valeriana también serían ortodoxas, esto significa que las semillas pierden gradualmente su viabilidad (Querol 1988, Berjak y Pammenter 1997), así lo indican las pruebas de Valdez (2017) quien trabajó con semillas de 2, 4 y 6 meses de edad postcosecha. En cambio, pruebas realizadas con semillas de dos años de edad postcosecha mostraron nula germinaron.

La semilla es un aquenio (fruto-semilla), de color marrón oscuro, de forma ovoide – elíptico, gabro, arrugado, con tres suturas longitudinales y papus prominente de cinco radios o ramitas. Se aproxima en su morfología a las semillas de *V. clarinifolia*, *V. lapatifolia* y *V. leucocarpa*, pertenecientes al grupo III, según la clasificación de Kutschker (2008) para valeriana de los Andes Australes (Seminario *et al.* 2016).

El fruto es un aquenio de 1.5 a 2 mm de longitud, de color café en estado de madurez, de forma creciente en corte transversal, el vilano de 3 – 5 mm de longitud, usualmente con 6 radios lo cual facilita su dispersión. El tipo de germinación es epigea (Córdoba 2007).

Según Mader (2007), un aquenio es un tipo de fruto seco producido por numerosas especies de plantas. La combinación de fruto y semilla es lo que se considera tal en numerosas especies, a los mismos se les considera como frutos simples, secos indehiscentes que presenta ovario simple, con una sola semilla.

2.2.5. Usos y bondades de las valerianas

En la actualidad, las infusiones y tintura de la raíz por sus propiedades medicinales se utilizan en un gran número de enfermedades (Arias 2013). Estas raíces frescas y secas se consumen en forma de cocción por 5 minutos, en una proporción de 10 gramos por litro de agua. La dosis es de 1 taza antes de dormir en la noche y si es necesario se adiciona una taza por la mañana (Sánchez 2011).

Las raíces de valeriana contienen 1 % de un aceite esencial de acción antiespasmódica, con numerosos componentes y del 1 % al 5 % de valepotriatos, son sustancias a las que se les han atribuido el efecto sedante, somníferos, analgésicos, antiespasmódicos y anticonvulsivantes. Produce la sedación del sistema nervioso central, disminuyendo la ansiedad, la valeriana tomada regularmente previene de los ataques epilépticos (Cueva 2003).

La valeriana se emplea para combatir trastornos nerviosos, en particular la depresión, cansancio, agotamiento, intelectual e insomnio. El extracto alcohólico se utiliza también como sedante nervioso, aunque no tiene propiedades narcóticas ni produce dependencia. Los baños de valeriana, administrado tres veces por semana mejoran significativamente el estado de los pacientes con fibromialgia y reduce el dolor en los puntos dolorosos (Tovar 2001).

La farmacopea de la India describe sus usos como estimulante y antiespasmódico. La usan no solo contra el tratamiento de problemas nerviosos, sino también como sedativo e hipnótico, para el mejoramiento vascular, en la menopausia y contra problemas de la médula espinal. En la cultura china se le atribuyen propiedades energéticas por su sabor amargo y ácido (Cristina 1980).

2.2.6. Propagación de valeriana pilosa.

2.2.6.1 Propagación sexual.

En el campo se observa plántulas solitarias provenientes de semilla botánica, sin embargo la frecuencia es baja. En un muestreo de 25 m², en cuatro lugares (mes de enero) se detectó un promedio de tres plántulas de aproximadamente 6 cm de altura, con 12 hojas pequeñas provenientes de semilla botánica. Sin embargo, debido a la abundancia de pastos naturales y plantas silvestres es difícil detectarlos, debido a que pueden estar aún más pequeñas que las encontradas. La germinación de esta especie es baja (40 %) (Ramirez *et al.* 2006).

La semilla presenta un papus que le permite ser transportada por el viento. Por lo que cree que esta es la primera forma de propagación, pero a la vez, la más dificultosa, ya que las semillas deben encontrar buenas condiciones para la germinación (temperatura, humedad, radiación solar y aireación) condiciones sin duda difíciles de encontrar en la jalca (Seminario *et al.* 2016).

2.2.6.2 Propagación asexual

Entre la parte aérea y la parte subterránea de la planta de Valeriana, se genera una corona, en la cual, se producen yemas adventicias que se convierten en brotes con sus propias raíces, para luego formar una mata que empieza la floración a los 2 o 2.5 años de edad (Seminario *et al.* 2016).

La propagación asexual está adaptada a la jalca, encontrándose en el campo, matas, las que se han producido mediante ramificaciones del tallo, tipo hijuelo con múltiples yemas (Machuca 2012).

Según Castillo *et al.* (2001), se conoce que para obtener una hectárea de *Valeriana edulis*, de México, se requiere aproximadamente 40 mil plantas. Si de cada planta madre se obtiene 10 hijuelos, se necesitarían cuatro mil plantas madres para poder plantar esa hectárea. La valeriana no es una planta delicada, si no se riega se seca sus hojas pero la raíz persiste y cuando se le aplica agua brota nuevamente.

2.2.7. La semilla y sus características.

Botánicamente, la semilla de las angiospermas es un órgano, producto de la fecundación y desarrollo del ovulo o rudimento seminal; la semilla en si constituye una joven plantita en estado de reposo transitorio rodeado de una cubierta protectora y provista de sustancias de reservas que espera ser diseminada para originar una nueva planta (Chávez 1987).

Para otros autores, mencionan que la semilla es un óvulo maduro, encerrado dentro del ovario o fruto. Las semillas y los frutos de las diferentes especies varían mucho en su aspecto, forma, tamaño, situación y estructura del embrión, así como en la presencia de tejidos de almacenamiento. Estas diferencias son útiles para su identificación (Hartmann y Kester 1997). Las semillas constan de tres partes fundamentales.

2.2.7.1 El embrión.

El embrión que se considera como una nueva planta que resulta de la unión, durante la fertilización, del gameto masculino con el femenino. Su estructura básica consiste en un eje con puntos de crecimiento en cada extremo, uno para el tallo y uno para la raíz con la presencia de una o más hojas seminales (cotiledones) fijadas en el eje embrionario (Hartmann y Kester1997). Se le considera al embrión como una planta en estado embrionario, varía mucho en aspecto en distintas semillas, generalmente por diferencias en la forma y desarrollo relativo de sus partes (Holman y Robbins 1982).

2.2.7.2 Tejidos de almacenamiento.

Los tejidos de almacenamiento de la semilla pueden ser los cotiledones, el endospermo, el perispermo. A las semillas en las cuales el endospermo es grande y contiene la mayor parte del alimento almacenado se les llama semillas albuminosas; a aquellas que carecen de endospermo, o bien está reducido a una capa delgada que rodea al embrión, se les llama semillas exalbuminosas. En el último caso, la reserva alimenticia está en los cotiledones y el endospermo fue digerido por el embrión durante su desarrollo (Hartmann y Kester1997).

El albumen o endospermo es un tejido de reserva que provee de nutrientes al embrión. Las sustancias almacenadas en este tejido están formadas principalmente por gránulos de almidón, lípidos y proteínas (Pérez 1999).

2.2.7.3 Envoltura de la semilla.

Las cubiertas de la semilla, por lo común son uno o dos (raramente tres) y se derivan de los tegumentos del óvulo. La cubierta exterior de la semilla se seca, se endurece y engrosa, y toma cierta coloración que puede ser café o de otro tono. La cubierta interior usualmente queda delgada, transparente y membranosa. Dentro de esta capa se encuentran remanentes de la nucela y del endospermo, que a veces forman una capa distinta y continua alrededor del embrión (Hartmann y Kester 1997). La envoltura seminal envuelve

completamente a las semillas protegiéndolo de los daños causados por el medio ambiente y regulan los cambios que se producen entre el interior y el exterior de la semilla (La Cuadra 1993).

2.2.7.4 Madurez de la semilla.

Durante la maduración de la semilla se efectúan cambios físicos y químicos que conducen a la senescencia del fruto y a la diseminación de la semilla, uno de los más obvios es el secamiento de los tejidos del fruto. En algunos de ellos, esto lleva a la dehiscencia y a la descarga de las semillas que contienen. Se pueden registrar cambios en el color de los frutos y de las cubiertas de la semilla (Hartmann y Kester 1997).

En general, una semilla es madura cuando ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico. La madurez morfológica se suele alcanzar sobre la misma planta, pero existen algunas especies donde la dispersión de la semilla o diseminación tiene lugar antes de que se alcance la madurez morfológica (La Cuadra 1993). Mientras que la madurez fisiológica no se manifiesta por ningún cambio morfológico externo pero son imprescindibles para que se produzca la germinación. Este tipo de maduración implica la pérdida de sustancias inhibitoras de la germinación (Pérez 1999).

2.2.8. Tipos de semillas según su respuesta a la desecación.

2.2.8.1 Las semillas ortodoxas.

Las semillas ortodoxas adquieren tolerancia a la deshidratación durante su desarrollo y pueden almacenarse en estado seco, por períodos predecibles y bajo condiciones específicas, a no ser que estén debilitadas por hongos con tolerancia cero en almacenamiento (Roberts 1973, Berjark y Pammenter 1997). Estas semillas sobreviven a los períodos de desecación y bajas temperaturas durante su conservación postcosecha de manera que incrementan su viabilidad de manera logarítmica al reducir la temperatura de almacenamiento y el contenido de humedad de las mismas (Querol 1988).

2.2.8.2 Las semillas recalcitrantes.

Las semillas recalcitrantes (también conocidas como semillas no ortodoxas) son aquellas que no sobreviven en condiciones de sequedad y frío cuando son conservadas. Este grupo de semillas son sensibles a las reglas de conservación que se aplican en mayor parte a las especie, pierden su viabilidad rápidamente, sobre todo cuando son secadas, o almacenadas a bajas temperaturas. Este tipo de semillas pasan por un corto o ningún secado de maduración, y permanecen sensibles a la deshidratación, tanto en su desarrollo como después de su desprendimiento (Berjark y Pammenter 1997).

2.2.9. Germinación de semillas.

Una semilla está formada por un embrión y su provisión almacenada de alimento, rodeados por cubiertas protectoras. En la época en que la semilla se separa de la planta madre, su metabolismo se encuentra en un nivel bajo y no hay en ella señales aparentes de actividad de crecimiento (Hartmann y Kester 1997). Durante la germinación, el metabolismo celular se incrementa permitiendo que el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento (Courtiz 2013).

La recuperación de la actividad biológica por parte de los diferentes tejidos de la semilla constituye precisamente el proceso de germinación. En este proceso la semilla se desarrolla hasta convertirse en plántula, para esto previamente la semilla pasa del estado latente al estado activo (Chávez 1987). La mayor parte de las semillas son capaces de permanecer, durante largos periodos de tiempo, en un estado en el que las actividades vitales se reducen al mínimo, en espera de unas condiciones ambientales favorables que permitan la germinación (Pérez 1999).

De acuerdo a Hartman y Kester (1997) para la germinación de una semilla deben cumplirse tres condiciones: que el embrión sea viable (el embrión debe estar vivo y tener capacidad para germinar), las condiciones internas de la semilla deben ser favorables para la germinación, es decir, deben de haber desaparecido las barreras físicas o químicas para la germinación,

y por último que los factores externos, tales como, la disponibilidad de agua, temperatura, oxígeno y luz sean favorables.

2.2.9.1 Proceso de la germinación.

El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos están la viabilidad del embrión, la cantidad y calidad del tejido de reserva y los diferentes tipos de dormancia. Algunos de los factores externos que regulan el proceso son el grosor de la testa, disponibilidad de agua, temperatura y tipos de luz. El estudio de la biología y fisiología de las semillas es de vital importancia para el hombre, ya que la mayoría de las especies cultivadas como los cereales son propagadas a partir de semillas sexuales (Lira 1994).

El proceso de germinación tiene lugar en el momento adecuado, cuando las condiciones son favorables. Mientras tanto las semillas pueden estar en estado latente durante largo tiempo, dependiendo del tipo de especie que se trate. En algunas especies esta debe producirse en un período relativamente corto de tiempo, o la semilla termina muriendo. En otros casos, la germinación puede esperar cientos de años (Molist *et al.* 2011).

2.2.9.1.1 Estadios de hidratación o imbibición.

Es el proceso de absorción de agua por la semilla. Se da por las diferencias de potencial hídrico (mátrico) entre la semilla y la solución de imbibición. Este proceso consta de tres fases: 1) incremento rápido en la absorción de agua; 2) fase de estabilización y movilización de nutrientes; 3) absorción de agua que generalmente coincide con el proceso de germinación (Suarez y Melgarejo SF.).

Este fenómeno de entrada de agua se denomina imbibición y es puramente físico. La cantidad que penetra depende de las especies, pero es por lo general muy alta. En los cereales es del 40 al 60 % del peso de la semilla seca y en algunas leguminosas, como la arveja, asciende al 180 %. La cantidad de agua absorbida por las diferentes especies depende del tipo de sustancias de reserva que contengan, aquellas con endospermo amiláceo tienen un grado de

hidratación menor que las que presentan endospermo proteico, altamente hidratable (Courtiz 2013).

2.2.9.1.2 Estadio de digestión y translocación.

En este estadio la absorción del agua y la respiración se mantiene a un ritmo constante. Los sistemas celulares se activan y los sistemas de síntesis de proteínas funcionan para producir diversas nuevas enzimas, materiales estructurales, compuestos reguladores, ácidos nucleicos, etc., para efectuar las funciones celulares y sintetizar nuevos materiales. Aparecen enzimas y empiezan a digerir los materiales de reserva (grasas, proteínas, carbohidratos) contenidas en los tejidos de almacenamiento (cotiledones, endospermo, perispermo) para transformarlos en compuestos químicos más sencillos. Estos compuestos luego son traslocados a los puntos de crecimiento del eje embrionario para usarse en el crecimiento y la formación de nuevas partes de la planta (Hartman y Kester 1997).

2.2.9.1.3. Estadio de división celular.

El tercer estadio de la germinación de semillas consiste en la división celular en los puntos de crecimiento separados del eje embrionario seguida de la expansión de las estructuras de la plántula. Como consecuencia de la división celular se produce el crecimiento, esto se debe al aumento de las células ya formadas, a la producción de nuevas células en el punto de crecimiento de la radícula y la plúmula (Holman y Robbins 1982).

A medida que avanza la germinación, pronto se pone de manifiesto la estructura de la plántula. El embrión está formado por un eje que tiene una o más hojas seminales o cotiledones. El punto de crecimiento de la raíz, la radícula, emerge de la base del eje embrionario. El punto de crecimiento del brote, la plúmula, se encuentra en el extremo superior del eje embrionario, arriba de los cotiledones. El tallo de la plántula se divide en la sección situada abajo de los cotiledones, hipocótilo y la sección que se encuentra arriba, el epicótilo (Hartman y Kester 1997).

2.2.9.2 Factores que afectan la germinación.

Se puede considerar dos tipos de factores que afectan la germinación de las semillas: factores extrínsecos y factores intrínsecos. Entre los factores externos se encuentran: agua; gases; temperatura y luz.

Entre los internos se pueden citar: embriones fisiológicamente inmaduros; inhibidores; presencia de tegumentos duros; viabilidad de las semillas, que es el periodo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar y que es extremadamente variable, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y del tipo de semilla; su longevidad, es decir el tiempo que puede permanecer viables, presencia de fitocromos; embriones rudimentarios; embriones anatómicamente inmaduros (Courtiz 2013).

2.2.9.2.1. Factores externos.

a) El agua

El agua es un factor muy importante para el inicio, ya que esta ablanda las envolturas de la semilla, permitiendo que el embrión y el endospermo se hidraten para luego romper fácilmente las envolturas que las rodean. Además facilita la entrada del oxígeno y hace posible el transporte del alimento soluble del endospermo o cotiledones a los puntos de crecimiento del embrión, donde son necesarios para formar nuevo protoplasma (Holman y Robbins 1982).

El Contenido de humedad mínimo para que ocurra la germinación, depende del material de reserva almacenado. Las semillas con alto contenido de proteína necesitan un contenido de humedad mayor que semillas con niveles bajos de proteína (Lira 1994).

b) Temperatura.

El proceso de germinación, como todos los procesos fisiológicos está afectado por la temperatura. Ésta afecta principalmente a la actividad enzimática necesaria para la degradación de las sustancias de reservas (Pérez 1999). Para cada clase de semillas existe una temperatura mínima y una máxima en la que

ocurre la germinación. Además, dentro del rango temperatura mínima-máxima, existe un punto en el que se obtiene máxima germinación y ésta ocurre más rápidamente; este punto corresponde a la temperatura óptima. Estas temperaturas se conocen como las temperaturas cardinales de germinación (Holman y Robbins 1982).

Los efectos de la temperatura sobre la germinación tienen características muy especiales cuando se trata de semillas con dormancia o latentes. La germinación de algunas semillas mejora notablemente bajo condiciones de baja temperatura (método de romper latencia denominado estratificación); otras semillas responden favorablemente a tratamientos con temperaturas altas (Ejemplo: arroz) (Lira 1994).

El mismo autor menciona que, Algunas semillas que necesitan luz para germinar ofrecen respuestas interesantes a la temperatura. Por ejemplo, la semilla de lechuga germina en la oscuridad a temperaturas menores de 20 °C, pero necesitan de luz para germinar a temperaturas por arriba de 20 °C.

c) Luz.

La exposición a la luz estimula la germinación de semillas de muchas especies silvestres y agrícolas. En la gran mayoría de los casos se estimula la germinación mediante exposición a luz roja (660 nm = 6600 Å) y se inhibe con luz de 730 nm de longitud de onda. En esta reacción a condiciones lumínicas está involucrado el fitocromo. A este tipo de semillas se las denomina fotoblásticas. Cuando la luz incide positivamente en la germinación, se dice que las semillas tienen fotoblastismo positivo; en cambio, si la germinación se ve inhibida en presencia de luz, estas tienen fotoblastismo negativo. Cuando la luz no afecta a la germinación se dice que las semillas son no fotoblásticas (Courtiz 2013).

La presencia de luz u oscuridad puede ser requerida para la germinación o puede provocar su inhibición (Rossetti 2014). En muchos casos las semillas solo germina bajo la presencia de luz, mientras que otras quedan inhibidas por efecto de la misma (La Cuadra 1993).

d) Aireación de la semilla.

Los gases que en el medio de germinación pueden afectar a la germinación de las semillas son el oxígeno, el dióxido de carbono y posiblemente el etileno. El oxígeno es esencial para los procesos respiratorios que se efectúan en las semillas en germinación y la absorción de oxígeno puede medirse poco después que inicia la imbibición. En general la absorción del oxígeno es proporcional a la actividad metabólica que se está efectuando en la semilla (Hartman y Kester 1997).

El oxígeno disuelto en el agua debe llegar hasta el embrión, a veces algunos elementos presentes en la cubierta seminal, pueden reducir la difusión del oxígeno desde el exterior hacia el embrión. Además, hay que tener en cuenta que, la cantidad de oxígeno que llega al embrión disminuye a medida que aumenta la disponibilidad de agua (Pérez 1999).

2.2.9.2.2 Factores internos.

a) Madurez de la semilla.

La madurez de las semillas puede definirse desde el punto de vista morfológico (**madurez morfológica**) o desde el fisiológico (**madurez fisiológica**). Se suele considerar que una semilla es morfológicamente y fisiológicamente, madura cuando reúne las siguientes condiciones:

- Su embrión ha completado su proceso de diferenciación.
- Ha alcanzado su tamaño máximo.
- Dispone de las siguientes reservas nutritivas.
- Es capaz de germinar, siempre y cuando no presente mecanismos de dormición.

La madurez morfológica de una semilla se da cuando las distintas estructuras han desarrollado completamente, dándose por concluida cuando el embrión alcanza su máximo desarrollo. En general, la madurez morfológica se suele alcanzar sobre la misma planta, pero existen, sin embargo, algunas especies donde la dispersión de la semilla tiene lugar antes de que se alcance (Pérez 1997).

El mismo autor menciona que, La madurez fisiológica no se manifiesta por ningún cambio morfológico externo pero son imprescindibles para que se produzca la germinación. Lo más común es que la madurez fisiológica implique la pérdida de sustancias inhibitoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras.

2.2.9.3 Inhibidores de la germinación de semillas.

De muchas partes de las plantas se han extraído e identificado sustancias químicas que actúan como inhibidores de la germinación de las semillas. Esas sustancias se producen durante el desarrollo del fruto y de la semilla y algunas de ellas se acumulan en el fruto, las cubiertas de la semilla y en el embrión. Se producen dos clases generales de dichas sustancias. Una clase comprende a subproductos de procesos metabólicos cuya presencia puede ser incidental a un papel en la regulación en la germinación. Una segunda clase incluye hormonas vegetales de ocurrencia natural que controlan, no sólo la germinación de la semilla sino el crecimiento y desarrollo de la planta en general (Hartman y Kester 1997).

En especies tropicales y subtropicales, los inhibidores se encuentran en el pericarpio e inhiben la germinación en las estaciones secas. La eliminación manual del pericarpio o la lixiviación de los frutos es suficiente para que se inicie la germinación de las semillas. En condiciones naturales, esto ocurre en las estaciones lluviosas. El efecto inhibitorio en la germinación se consigue también con la aplicación de reguladores del crecimiento, como el ácido abscísico o el etileno (Courtiz 2013).

2.2.9.4 Presencia de tegumentos duros.

Las semillas no pueden germinar o la germinación se ve retrasada por tener tegumentos duros. Estos presenta una dureza por: Impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas, sustancias pécticas insolubles, impermeabilidad al oxígeno por presencia de fenoles, que no permiten que el oxígeno llegue al embrión. Resistencia mecánica a la expansión del embrión por

contener un estrato de esclereidas con paredes secundarias muy lignificada y no permite la difusión de los inhibidores fuera de la semilla (Berjark y Pamentier 1997).

2.2.9.5. Dormición de semillas.

La dormición (o latencia) es una ventaja adaptativa, que provoca que la germinación se produzca cuando las condiciones ecológicas le sean favorables a la plántula para su supervivencia (Holman y Robins 1982).

La latencia es la incapacidad de una semilla para germinar, debida a que las condiciones ambientales no son las apropiadas para hacerlo, incapacidad que va acompañada del mantenimiento de la viabilidad y de poder germinativo, que se manifestará cuando dichas condiciones ambientales sean propicias para la germinación (La Cuadra 1993)

La dormición o latencia es causada por mecanismos diferentes según las especies y puede ser impuesta, por más de uno de ellos, en la misma semilla. Se debe a causas estructurales o fisiológicas. En el primer caso, se encuentran: tegumentos impermeables al agua y gases, que no permiten la salida de inhibidores, por su constitución química (ceras, cutina) o su espesor grueso, que por acción mecánica impiden, la salida de la radícula y la plúmula (Weaver 1976)

En relación a las causas fisiológicas de la dormición, intervienen diferentes mecanismos que se localizan principalmente en el propio embrión (dormición embrional). La dormición embrional se debe a varias causas distintas: Presencia de inhibidores, embriones inmaduros, requerimiento de un periodo de bajas temperaturas, necesidad de un periodo de luz o un fotoperiodo determinado (Courtiz 2013).

2.2.9.6. Tratamientos pregerminativos.

En algunas ocasiones es difícil que se produzca la germinación, bien por las condiciones ambientales, época del año, características de la semilla (cubierta dura, estado de dormición, etc.) o simplemente porque no disponemos de las

condiciones adecuadas. Para ello es necesario recurrir a prácticas o tratamientos pregerminativos artificiales para estimular la germinación.

Los tratamientos pregerminativos usados para romper la dormición o latencia de las semillas, se utilizan para disminuir el tiempo de germinación y homogenizarlo. Cada especie requiere un tratamiento específico y con una intensidad diferente, de acuerdo al tipo de dormición que la afecte y a las características propias de la especie (Pérez 1999).

Cualquier tratamiento mecánico, físico y/o químico que se aplica a una semilla o grupo de ellas, con el objetivo de hacerlas germinar más rápidamente y en mucha mayor cantidad se considera tratamiento pregerminativo (Harmann y Kester 1997).

2.2.9.6.1. Uso de reguladores en la germinación.

Los reguladores de crecimiento, son compuestos orgánicos naturales, que en pequeñas cantidades, y por la naturaleza y el arreglo particular de su molécula, fomentan, inhiben o modifican el crecimiento de los vegetales ejerciendo una profunda influencia en los procesos fisiológicos (Cossio 2013).

En el área comercial los reguladores son formulaciones con ingredientes iguales o similares a las fitohormonas, o bien con ingredientes sin ninguna similitud, pero con una bioactividad reguladora específica. Estos compuestos, han demostrado tener un efecto influyente sobre los puntos de crecimiento, la germinación y muchas otras actividades en las plantas (Harmann y Kester 1997).

Los reguladores modifican el desarrollo vegetal en sus diversos estadios: germinación de semillas o yemas, desarrollo vegetativo, floración y fructificación. La fitoregulación se logra en muchos casos por la aplicación de hormonas sintéticas o de productos parecidos a ellas, que caen dentro de la misma familia química, considerándose que su acción es similar a la de los grupos hormonales: auxinas, giberelinas y citocininas (Rojas y Ramírez 1993).

Los fitoreguladores se aplican para restablecer el equilibrio hormonal y por tanto el desarrollo normal de la planta o bien para activar, retardar o modificar algún aspecto del desarrollo.

2.2.9.6.2. Las giberelinas.

Las giberelinas son el grupo de hormonas vegetales que afectan de manera directa al control y estímulo de germinación de semillas al tener una actividad significativa en la fisiología de éstas. Comercialmente la giberalina más usada es el ácido giberélico (AG3), a pesar de que existen muchos tipos más de este regulador. Esta se aplica de manera exógena y con su uso se pueden superar muchos tipos de latencia como la fisiológica y la termolatenencia (Harmann y Kester 1997).

2.2.9.6.3. Biosíntesis y acción de las giberelinas.

Las giberelinas son sintetizadas por el coleoptilo y el escutelo del embrión y liberadas en el endospermo, luego se difunden hacia la capa de aleurona. Las células de la capa de aleurona son inducidas a sintetizar y segregar enzimas (amilasa y otras hidrolasas) en el endospermo amiláceo. El almidón y otros polímeros son degradados a pequeñas moléculas; los solutos liberados (monómeros) son transportados hacia el embrión donde son absorbidos y utilizados para el desarrollo del embrión (Figura 1).

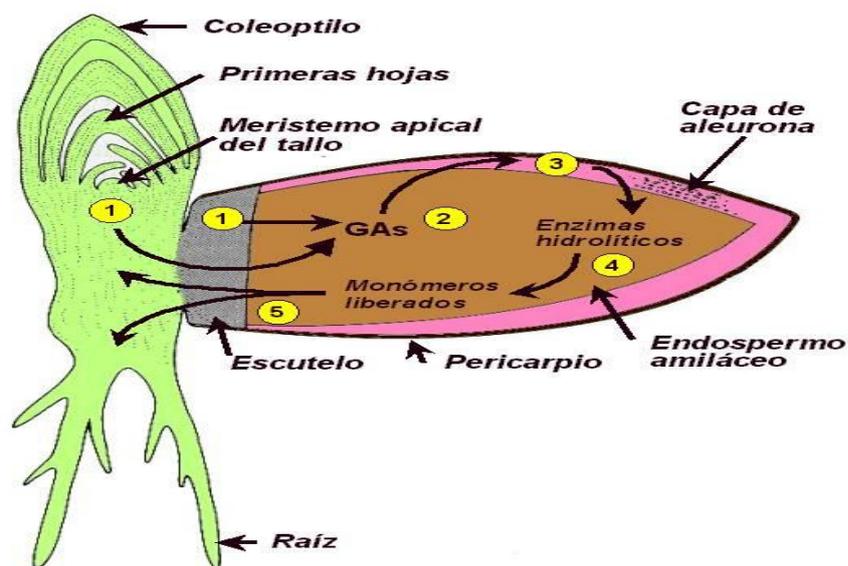


Figura 1. Acción del ácido giberélico (Fuente UPV s.f.).

El nivel giberelinas aumenta conforme se desarrolla el embrión luego decrece cuando la semilla madura. La biosíntesis se presenta a partir del ácido mevalónico. El transporte es a través del floema cuyo flujo parece estar activado por las giberelinas las cuales existen en forma libre y conjugada (Rojas y Ramírez 1993).

En la actualidad se conoce que las giberelinas se encuentran involucradas en el control de procesos claves en el desarrollo de las plantas, entre los que pueden citarse germinación de semillas, elongación de tallos, floración y fructificación (Weaver 1976).

La elongación de tallos, fue el primer efecto que se les asignó a las giberelinas. El proceso de elongación puede deberse a la estimulación de la división o a la elongación celular. Esto tiene su origen en el control que producen este tipo de compuestos en la expresión de un gran número de genes, incluidos los de la síntesis de proteínas intrínsecas del tonoplasto, y la formación de canales de agua que regulan el flujo hídrico dentro de la vacuola durante el proceso de expansión (Rojas y Ramírez 1993).

2.2.9.6.4. Aplicación exógena del ácido giberélico

La aplicación exógena de AG₃ produce una amplia variedad de respuestas en el crecimiento y desarrollo, donde la inducción del crecimiento del tallo y semillas es probablemente el efecto más evidente (Talón, citado por Deaquiz y Burgos 2013).

El AG₃ posee más de un sitio de acción en la estructura de la semilla y están directamente relacionadas con la terminación de la latencia del embrión, así como la reanudación del abastecimiento del endospermo, adicionalmente, existe evidencia de que altera la membrana celular incrementando su permeabilidad (Quad 2007). Esta hormona aumenta la extensibilidad y la tensión de relajación de la pared celular, lo que debilita la capa del endospermo y moviliza las reservas en el endospermo (Taiz y Zeiger 2006).

Son importantes también para inducir rompimiento de la latencia después de la imbibición de las semillas, permitiendo la germinación y crecimiento del embrión (Siobhan y Court 2003).

Según Villagrán (1999), citado por (Terán 2012) los principales métodos de aplicación del ácido giberélico en semillas son como se detalla continuación:

- Aplicación directa al medio: el ácido giberélico se disuelve en agua. Cuando la concentración del ácido es más de 800 ppm, se usan una solución amortiguadora. Esta solución se aplica en la siembra como riego y el resto de riegos se hacen normalmente.
- Remojo continuo: las semillas se dejan en remojo por un periodo de tiempo de 48 a 96 horas a 23 °C en una solución acuosa de la hormona. Las semillas deben sembrarse inmediatamente o incluso se ha encontrado que no se pierde el efecto de la hormona si se las seca.
- Solución en disolventes orgánicos: es el más efectivo para la penetración de la hormona en la semilla por lo que requiere de dosis menores que las del remojo continuo. Se disuelve la hormona en acetona, éter o metanol. Las semillas se sumergen por un periodo de cinco minutos a dos horas, se extraen de la solución y antes de sembrarlas se permite que el disolvente se evapore.

2.2.9 Germinación y su relación con la luz y oscuridad.

La relación entre la luz y el crecimiento de las plantas es compleja. Algunas semillas germinan sólo a la luz, algunas en la oscuridad y en algunos casos, la exigencia de luz está relacionada con la temperatura. Una vez que la planta comienza a crecer, requiere un poco de luz, pero no es una cantidad determinada para todas las plantas (Pece *et al.* 2013).

La luz promueve o inhibe la germinación en algunas especies. Entre las semillas sensibles, aquellas que son inhibidas por la luz son denominadas fotoblásticas negativas y aquellas que cuya germinación son inhibidas por la oscuridad son denominadas semillas fotoblásticas positivas, existen también semillas indiferentes a las condiciones de iluminación (Pérez 1997).

El mismo autor menciona que, las semillas con fotosensibilidad positiva no germinan si están enterradas a una cierta profundidad. En semillas con fotosensibilidad negativa ocurre lo contrario, las semillas para poder germinar deben situarse a una cierta distancia de la superficie del suelo con el fin de protegerse del efecto inhibitor de la luz.

En los lugares cubiertos de vegetación la luz que llega al suelo es pobre, mientras que en los lugares abiertos es más rica, debido a que la luz no ha sido filtrada por un dosel vegetal. El mecanismo de captación de la luz del fitocromo es sensible principalmente a la calidad de luz, lo que permite a las semillas detectar, en particular, la proporción del Rojo: Rojo Largo que llega al suelo. De esta manera, algunas semillas de plantas de sol pueden permanecer latentes cuando son dispersadas hacia lugares que están densamente cubiertos de vegetación y que no serían propicios para su establecimiento (Vásquez *et al.* s.f).

Este tipo de latencia regulada por la luz es muy común en semillas que permanecen latentes en la oscuridad, enterradas en el suelo, hasta que son exhumadas durante las prácticas agrícolas. Cuando estas semillas alcanzan la superficie del suelo quedan expuestas a la luz y germinan (Figueroa y Vásquez 2002)

La cantidad de fitocromo activo presente en una semilla en el momento de su liberación determina si ésta puede germinar en la oscuridad o si requerirá luz para iniciar el proceso. La influencia de la luz es ejercida por el efecto de longitud de onda (Calidad), intensidad y por la duración (fotoperiodo). En las semillas fotosensibles, el fitocromo es el fotoreceptor principalmente asociado con la captación y transmisión del estímulo. La inhibición de la germinación debida a la luz, se presenta principalmente en aquellas semillas no domesticadas (Frankland 1981, citado por Maciel y Bautista 1996).

En *Valeriana officinalis* se recomienda hacer germinar las semillas en oscuridad durante 20 días (Muñoz 2002). Bajo este antecedente, se cree que *V. pilosa* puede tener reacción positiva a la germinación en oscuridad.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizará en el Programa de Raíces y Tubérculos Andinos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca (distrito, provincia, y departamento de Cajamarca). Esta institución se encuentra ubicada a 3.5 km carretera a Baños del Inca - Cajamarca ($78^{\circ} 3'$ de longitud y $7^{\circ} 10'$ latitud sur), y a 2750 msnm.

3.2. Materiales

3.3.1. Material biológico

- Semillas de *Valeriana pilosa*, procedentes de Huanico (Namora).
- Ácido giberélico (AG_3)
- Hipoclorito de sodio ($NaClO$)
- Agua destilada

3.3.2. Material de campo

- Picos
- Bolsas
- Palana

3.3.3. Material y equipo de laboratorio.

- **Equipo:** Destilador de agua (CAT), balanza analítica (OHAUS), cámara fotográfica.
- **Materiales:** tubos de ensayo de 23 mm x 150 mm, placas Petri de 9 cm de diámetro, pipeta de 10 ml, probeta de 100 ml, balones Pyrex, papel aluminio, pinzas, alcohol de 96^o, papel secante detergente, aspersor.
- **Otros:** estiletes, jeringas, tijeras, bolsas de polietileno, higrómetro.

3.4. Metodología

La investigación se realizó entre los meses de setiembre de 2016 a enero de 2017, en la cual se planteó estudiar el efecto de tres tratamientos pregerminativos (hipoclorito de sodio, ácido giberélico y oscuridad) en semillas de *V. pilosa*. Para plantear estos tratamientos se tomó como base las investigaciones desarrolladas en *V. officinalis*, una especie cercana y afín a la especie en estudio.

Se trató de una investigación experimental con tres ensayos: uno, fue para estudiar el efecto del hipoclorito de sodio a 1, 2 y 3 %, más un control con 0 % de hipoclorito y, por 5, 10 y 15 minutos de remojo. En el segundo se estudió el efecto del AG3 en la germinación de semilla de valeriana, en concentraciones de 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm, cada uno con 24, 48, 72 y 96 horas de remojo. En el tercer ensayo se colocaron las semillas en placas Petri totalmente cubiertas (oscuridad completa) y se compararon con semillas puestas a germinar en luz de laboratorio. Este ensayo duró 30 días.

3.3.1 Trabajo de campo

El material de estudio se recogió del Centro Poblado Huanico del distrito de Namora. Cada muestra (planta de valeriana) fue cubierta con bolsas la parte de la inflorescencia para evitar que las semillas se caigan. Luego, fueron transportadas a las instalaciones del Programa de Raíces y Tubérculos Andinos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca para cumplir con los objetivos planteados.

3.3.2 Trabajo en laboratorio

3.3.2.1. Condiciones ambientales de laboratorio

Se realizaron registros de temperaturas máximas y mínimas del laboratorio donde se realizó el experimento, desde la fase de instalación y durante 4 meses. La temperatura fue registrada con un termohigrómetro que registra temperaturas máximas, mínimas y humedad relativa.

En la Figura 2, se observa que la temperatura máxima alcanza el promedio de 20 °C y la temperatura mínima se encuentra en promedio fue de 17.3 °C. Según los datos obtenidos en el Laboratorio, el promedio de temperatura entre agosto y noviembre del 2016, muestra picos de temperatura de valores máximos entre 19 °C y 20 °C en los meses de setiembre a diciembre.

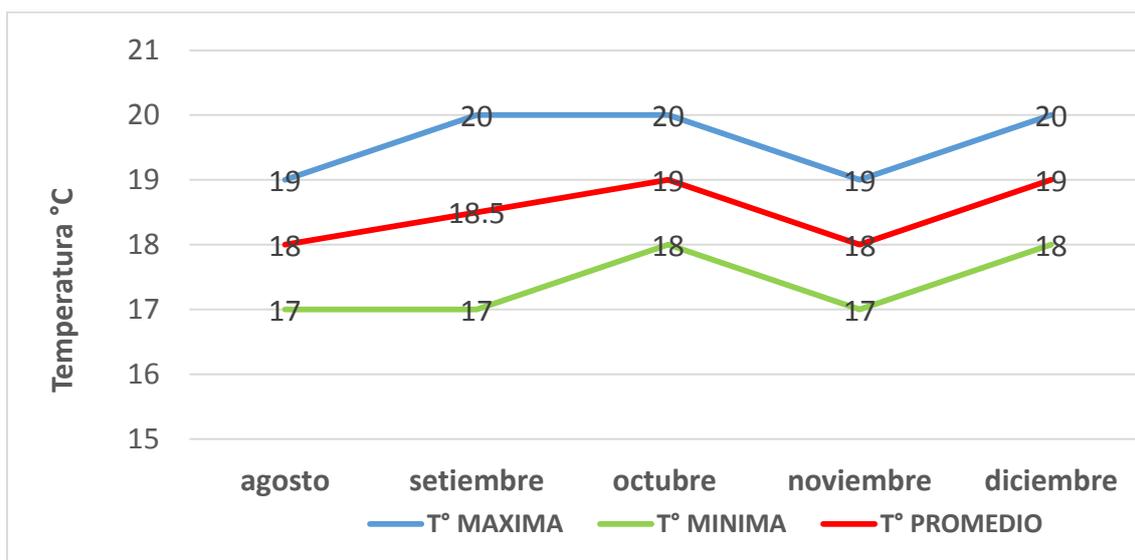


Figura 2. Temperatura máxima, mínima y promedio del laboratorio donde se realizó el experimento (setiembre a diciembre del 2016).

3.3.2.2. Aspectos generales sobre los ensayos de germinación

Los ensayos estuvieron dirigidos a indagar el efecto del ácido giberélico (AG_3), hipoclorito de sodio y fotoperiodo en la germinación de las semillas, tomando en consideración ciertos antecedentes de la literatura sobre germinación de semillas de la misma especie o de especies del mismo género.

En el laboratorio, las semillas colectadas, fueron tamizadas, seleccionadas, lavadas y desinfectadas (con hipoclorito de sodio al 2%), para reducir al máximo las impurezas y evitar contaminaciones que perjudiquen las evaluaciones. Se utilizó placas petri de 9 cm de diámetro, esterilizadas con alcohol al 96% y dentro de las cuales se puso papel filtro estéril y un disco de polietileno de baja densidad, para cubrir y mantener la humedad de las semillas como se muestra en la Figura 3.

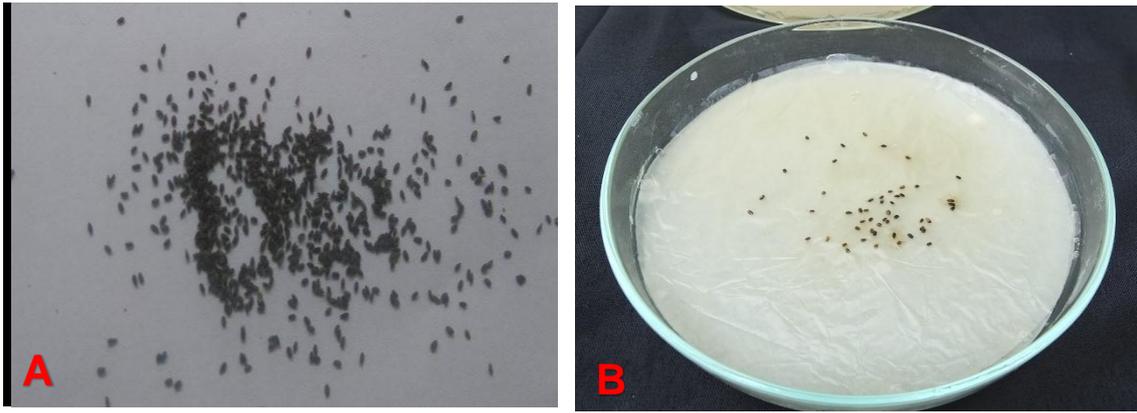


Figura 3. A: Semillas de valeriana seleccionadas, B: disposición de las semillas en las placas Petri cubiertas con un disco de papel filtro y un disco de polietileno transparente.

Para cada tratamiento se consideró tres repeticiones con 50 semillas por cada placa Petri. Los tratamientos se pusieron a germinar en condiciones de temperatura ambiente (19 °C)

Se realizó conteos de las semillas germinadas cada semana, desde el día en que se instaló el experimento (día 1), hasta el día en que se terminó la evaluación programada que fue de 30 días por experimento. En todos los ensayos de germinación, se consideró como semilla germinada aquella que presentó la radícula expuesta y observable a simple vista (Figura 4).



Figura 4. A. Semillas de valeriana después de 15 días de establecido el experimento. B. semilla de valeriana con la radícula expuesta, contabilizada como semilla germinada.

a. Ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (NaClO), en la germinación de semillas de valeriana.

Para este ensayo se utilizaron semillas seleccionadas al azar, de 5 meses de edad postcosecha, las cuales, fueron remojadas en una solución de hipoclorito de sodio a 1 %, 2 % y 3 % y, en 5 minutos, 10 minutos y 15 minutos de remojo (Tabla 1). El remojo de las semillas se realizó en tubos de ensayo. Luego se colocaron en placas Petry (Figura 5). Los tratamientos fueron 10, derivados de la combinación de tres concentraciones de hipoclorito X tres tiempos de remojo, más un testigo (con agua pura) (Tabla 1). Se usó el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial (3 concentraciones de hipoclorito X 3 tiempos de remojo) y tres repeticiones para cada tratamiento.

Las evaluaciones se iniciaron a los 7 días después de establecido el experimento, y se realizaron cada 7 días hasta los 60 días de evaluación.

Tabla 1. Tratamientos y código para el ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio en la germinación de semillas de valeriana.

Factores	Niveles	Tratamiento	Código
Hipoclorito de Sodio	1 %	1 % de hipoclorito de sodio y 5 minutos de remojo	T1
	2 %	1 % de hipoclorito de sodio y 10 minutos de remojo	T2
	3 %	1 % de hipoclorito de sodio y 15 minutos de remojo	T3
		2 % de hipoclorito de sodio y 5 minutos de remojo	T4
		2 % de hipoclorito de sodio y 10 minutos de remojo	T5
Tiempo de remojo	5	2 % de hipoclorito de sodio y 15 minutos de remojo	T6
	10	3 % de hipoclorito de sodio y 5 minutos de remojo	T7
	15	3 % de hipoclorito de sodio y 10 minutos de remojo	T8
		3 % de hipoclorito de sodio y 15 minutos de remojo	T9
Control		Remojo de semillas en agua destilada	T10

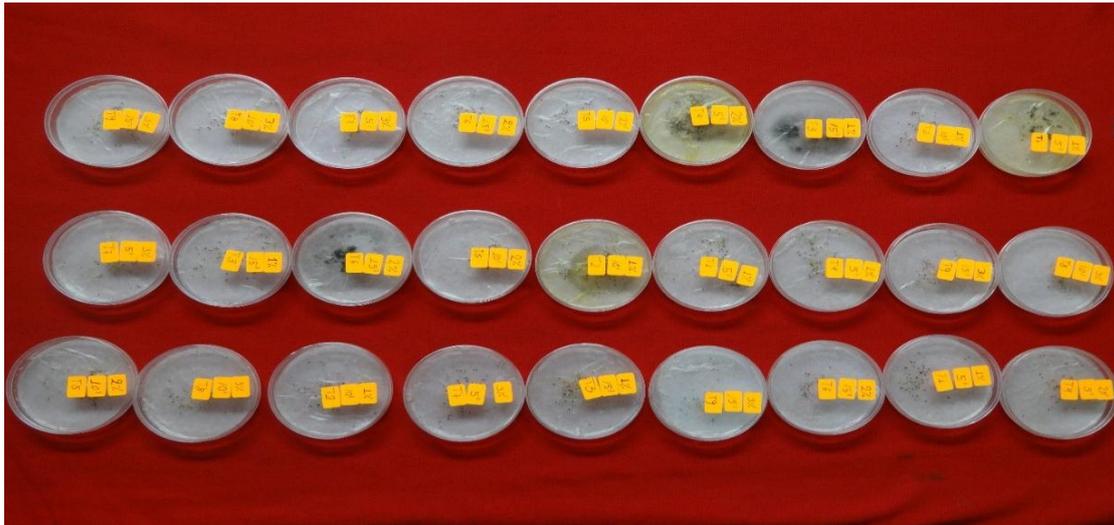


Figura 5. Disposición de los tratamientos del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio, en la germinación de semillas de valeriana.

B. Ensayo sobre el efecto del ácido giberélico (AG3), en la germinación de semillas de valeriana.

Se utilizó semilla seleccionada al azar de aproximadamente 6 meses de edad postcosecha, las cuales fueron lavadas y desinfectadas con hipoclorito al 2 % durante 5 minutos (mejor tratamiento del ensayo con hipoclorito), luego fueron remojadas en AG₃ a las concentraciones de 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm y remojadas por 24 horas, 48 horas, 72 horas y 96 horas (Tabla 2). Durante el remojo, las semillas se dispusieron en tubos de ensayo. Posteriormente, se acondicionaron en placas Petry (Figura 6). Para este ensayo se usó el diseño completamente al azar, con arreglo factorial 3 concentraciones de AG₃ X 4 tiempos de remojo, más un testigo (semillas en agua), con 3 repeticiones. Las evaluaciones se iniciaron a los 7 días después de establecido el experimento, y se realizaron cada 7 días hasta los 30 días de evaluación.

Tabla 2. Tratamientos y código para el ensayo sobre el efecto del ácido giberélico (AG₃), en la germinación de semillas de valeriana.

Factores	Niveles	Tratamiento	Código
AG ₃	400 mg/L	400 mg/L de AG ₃ y 24 horas de remojo	T1
	800 mg/L	800 mg/L de AG ₃ y 24 horas de remojo	T2
	1200 mg/L	1200 mg/L de AG ₃ y 24 horas de remojo	T3
Tiempo de remojo		400 mg/L de AG ₃ y 48 horas de remojo	T4
		800 mg/L de AG ₃ y 48 horas de remojo	T5
	24 horas	1200 mg/L de AG ₃ y 48 horas de remojo	T6
	48 horas	400 mg/L de AG ₃ y 72 horas de remojo	T7
	72 horas	800 mg/L de AG ₃ y 72 horas de remojo	T8
	96 horas	1200 mg/L de AG ₃ y 72 horas de remojo	T9
		400 mg/L de AG ₃ y 96 horas de remojo	T10
		800 mg/L de AG ₃ y 96 horas de remojo	T11
		1200 mg/L de AG ₃ y 96 horas de remojo	T12
Control		Semillas puestas a germinar con agua destilada	T13



Figura 6. Disposición de los tratamientos del ensayo sobre el efecto del AG₃, en la germinación de semillas de valeriana.

C. Ensayo sobre el efecto de la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

Para este ensayo se utilizó semillas seleccionada al azar de 6 meses de edad postcosecha. Las cuáles fueron dispuestas en placas Petry, con suficiente humedad y, recubiertas con papel aluminio, de tal manera que no permita el paso de luz al interior de las placas (Figura 7). Para este ensayo se utilizó el diseño completamente al azar con 2 tratamientos (T1: luz ambiente y T2: oscuridad) y 6 repeticiones. Las evaluaciones se iniciaron a los 7 días después de establecido el experimento, y se realizaron cada 7 días hasta los 30 días de evaluación.

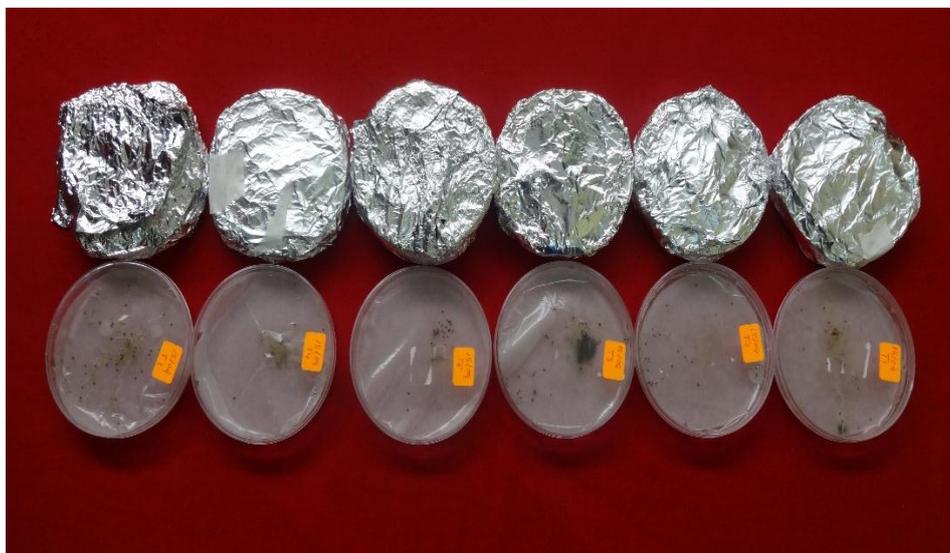


Figura 7. Disposición de los tratamientos del ensayo del efecto de la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se discuten los resultados de la investigación, a través de los datos recolectados en las diferentes fases ensayadas que se realizaron en laboratorio, con el propósito de cumplir con el objetivo propuesto que es. Determinar la influencia del hipoclorito de sodio, ácido giberélico (AG3) y oscuridad en el porcentaje de germinación de semillas de *Valeriana pilosas* R & P.

4.1. Efecto de tres concentraciones de hipoclorito sodio y tres tiempos de remojo en la germinación de semillas de valeriana.

En los resultados del análisis de varianza (Tabla 3), se encontró significación estadística al 1 % de probabilidades para la interacción de los factores (NaClO x Tiempo de remojo), este resultado indica que los factores actúan de forma conjunta, es decir, que ambos factores producen un efecto significativo en el porcentaje de germinación de semillas de valeriana.

Para el contraste de la interacción con el testigo, se encontró significación estadística al 1 % de probabilidad. Esto indica que el porcentaje de germinación afectada por la combinación de los factores (NaClO x tiempo de remojo), es significativamente diferente al porcentaje de germinación afectada por el testigo (semillas remojadas en agua)

El coeficiente de variabilidad (CV = 9.68 %), indica la variabilidad del material experimental y seguramente algunos errores en la conducción de experimento. Esta variabilidad posiblemente se atribuya al estado fisiológico de las semillas, integridad de las semillas (viabilidad y al estado de latencia), asociados a otros posibles factores que afectaron el porcentaje de germinación. Como producto de dicha asociación se encontró que el porcentaje de germinación dentro de un

mismo tratamiento (combinación del hipoclorito de sodio y tiempo de remojo) fue variado.

Tabla 3. Análisis de varianza (ANOVA) del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1 %, 2 % y 3 %) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana (datos transformados con $\arccos \sqrt{P\%}$).

Fuente de Variación	Grados de libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	p- Valor
Hipoclorito de sodio (H)	2	716.74	358.37	24.72**	0.00000
Tiempo (T)	2	220.17	110.085	7.59**	0.00352
H*T	4	539.8	134.95	9.31**	0.00020
(H*T) VS. Testigo	1	1148.66	1148.66	79.23**	0.00000
Error	20	289.96	14.498		
Total	29	2915.33			

CV = 9.47 %

Tomando en cuenta el resultado de la Tabla 3 (significación estadística para la interacción de los factores), se procedió a hacer el análisis de los efectos simples (Tabla 4), en el cual se encontró significación estadísticas al 1 % de probabilidades, entre el factor hipoclorito de sodio con los diferentes niveles del factor tiempo (5, 10 y 15 minutos, respectivamente), indicando que el porcentaje de germinación está influenciado por los tiempos de remojo. De igual forma se encontró significación estadística entre el factor tiempo con los niveles h2 (10 %) y h3 (15 %) del factor hipoclorito de sodio.

En la Figura 8, se observa que el porcentaje de germinación disminuye en función del tiempo de remojo y la concentración de hipoclorito de sodio, es decir que a 5 minutos se obtiene el mayor porcentaje y que a 15 minutos se obtiene el menor porcentaje de germinación empleando las tres concentraciones de

hipoclorito de sodio. De este resultado se puede inferir que el efecto del hipoclorito de sodio en el porcentaje de germinación de semillas de valeriana, varía de acuerdo al tiempo de remojo. También se puede inferir que el efecto del tiempo de remojo en el porcentaje de germinación varía de acuerdo a la temperatura.

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA) para los efectos simples de los factores en estudio (datos transformados con $\arcsen\sqrt{P\%}$).

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	p - Valor
H con t1	2	599.89	299.94	19.54**	0.00003
H con t2	2	434.29	217.15	14.15**	0.00020
H con t3	2	222.36	111.18	7.24**	0.00493
T con h1	2	99.89	49.94	3.25 NS	0.06237
T con h2	2	445.61	222.8	14.51**	0.00018
T con h3	2	214.48	107.24	6.99**	0.00567
Error	18		15.35		

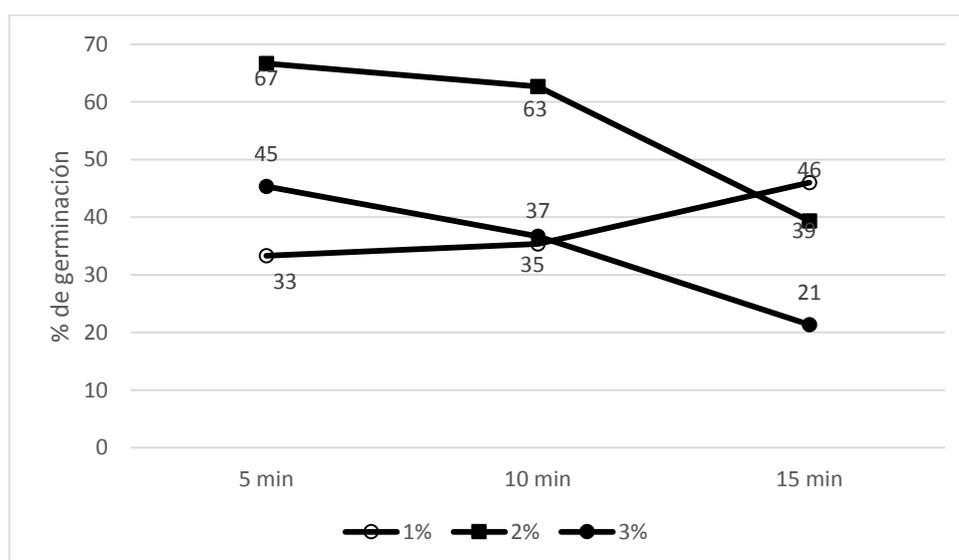


Figura 8. Porcentaje de germinación de semillas de valeriana en función de la del NaClO (1 %, 2 % y 3 %) y el tiempo de remojo (5, 10 y 15 minutos).

Para determinar el mejor tratamiento (combinación de los niveles) se realizó la prueba de rango múltiple de Tukey al 5 % de probabilidad (Tabla 5 y Figura 9). En esta prueba, se observa que se ha formado 5 grupos. El primero formado por los tratamientos T4 (2 % de hipoclorito de sodio más 5 minutos) y T5 (2 % de hipoclorito de sodio más 10 minutos) con una media de 67 y 63 %, de germinación, respectivamente, estos tratamientos son estadísticamente iguales y superiores al resto. El segundo, tercer y cuarto grupo presenta una diferencia numérica entre ellos y el promedio de germinación oscila entre 21 y 46 %. Por último se encuentra el testigo (semillas remojadas en agua), con un porcentaje de germinación del 13 %, el cual es estadísticamente inferior al porcentaje encontrado con las combinaciones de los factores (NaClO x tiempo de remojo).

Tabla 5. Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1 %, 2 % y 3 %) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana.

Orden de merito	Tratamientos	% de germinación	Significación al 5 %
1	2 % más 5min (T4)	67	A
2	2 % más 10min (T5)	63	A
3	1 % más 15min (T3)	46	B
4	3 % más 5min (T7)	45	B C
5	2 % más 15min (T6)	39	C
6	3 % más 10min (T8)	37	C D
7	1 % más 10min (T2)	35	C D
8	1 % más 5min (T1)	33	C D
9	3 % más 15min (T9)	21	D
10	Control	13	E

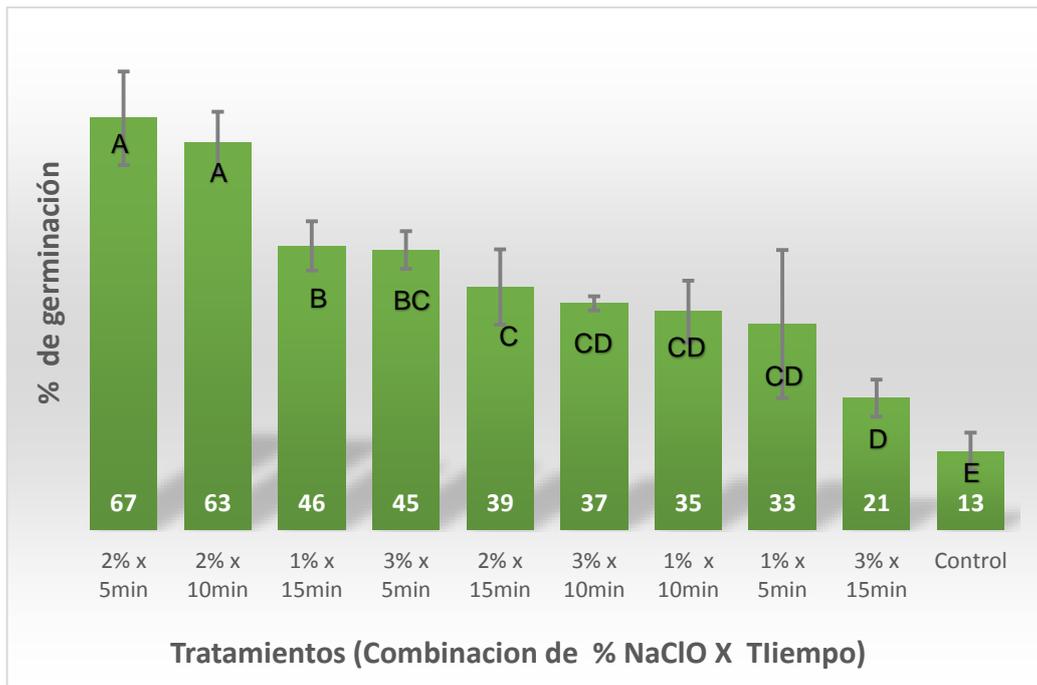


Figura 9. Porcentaje de germinación y significación del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1 %, 2 % y 3 %) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana.

Los resultados reportados en este ensayo son similares a los reportados por el Protocolo *in vitro* (2008 – 2011), en el cual se reporta que el mayor porcentaje de germinación (70 %), se encuentra utilizando hipoclorito al 2.5 % por un tiempo de remojo de 10 minutos. Es probable que a concentraciones de hipoclorito mayores de 2 % y con 15 minutos de remojo, se produzcan daños en el embrión y algunos no logran transformarse en plántulas.

Valdez (2017) en los ensayos de germinación en semillas de *Valeriana pilosa*, reporta que encontró 79 % de germinación con semillas de cuatro meses de edad postcosecha, utilizando hipoclorito de sodio al 2 % para desinfectar las semillas durante un intervalo de tiempo de 5 a 7 minutos de remojo.

El hipoclorito de sodio desinfecta y ablanda la cubierta de las semillas, permitiendo que en el proceso de germinación la radícula se desarrolle y rompa con total facilidad la cubierta de las semillas. Por otro lado, al aumentar la concentración, el porcentaje de germinación desciende y, posiblemente, en

concentraciones altas afecta la viabilidad de las semillas, debido a que las semillas de valeriana son pequeñas.

El hipoclorito de sodio se usa para estimular la germinación en semillas de arroz, se usa al 1 % del concentrado comercial y se hace el remojo, aunque no se indica el tiempo de remojo (Hartman y Kester 1980, Duarte s.f.).

4.2 Efecto de tres concentraciones (400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm) de AG₃ y cuatro tiempos de remojo (24, 48, 72 y 96 horas) en la germinación de semillas de Valeriana.

Los resultados del análisis de varianza indican que no existe significación estadística para los factores en estudio, de igual manera para la interacción de dichos factores (Tabla 6). Este resultado indica que no existe diferencias estadísticas entre los tratamientos. Posiblemente las diferencias se deban al azar, además, los factores actúan de forma independiente y causan un efecto no significativo en el porcentaje de germinación de semillas. Para el contraste de la interacción con el testigo, no se encontró significación estadística. Esto indica que el porcentaje de germinación afectada por la combinación de los factores (AG₃ x Tiempo de remojo), no es significativamente diferente al porcentaje de germinación afectada por el testigo (semillas remojadas en agua).

El coeficiente de variabilidad (CV = 13.6 %) indica la variabilidad del material experimental. Esta variabilidad posiblemente se atribuya al estado fisiológico de las semillas, integridad de las semillas (viabilidad y al estado de latencia), asociados a otros posibles factores que afectaron el porcentaje de germinación. Como producto de dicha asociación se encontró que el porcentaje de germinación dentro de un mismo tratamiento (combinación del AG₃ y Tiempo de remojo) fue variado.

Los resultados del porcentaje de germinación variaron entre 69 % (1200ppm por 96 h) y 57 % (800ppm por 96 h). La desviación estándar evidencia alta variabilidad en los tratamientos (Figura 10). Dicha variabilidad puede estar afectada por el estado de madurez de las semillas al momento de la recolección.

Este resultado es semejante al de Valdez (2017), el autor no encontró diferencias significativas para la interacción del ácido giberélico por el tiempo de remojo. El porcentaje de germinación más alto que encontró se reporta es de 61 % utilizando AG3 a 1200 ppm por un tiempo de remojo de 72 horas de remojo.

Por otro lado Dini *et al.* (2013), reporta que en el pariente más cercano, *Valeriana officinalis*, se encontró el 81 % de germinación, utilizando ácido giberélico a (800 ppm) como tratamiento pregerminativo y 47 % con 400 ppm. Estos resultados indican que el AG₃ tiene un efecto significativo en el porcentaje de germinación de esta especie domesticada, lo que no sucede con *V. pilosa*, que es una especie silvestre.

Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de germinación de semillas con tres concentraciones (400, 800 y 1200 ppm) de AG₃ y cuatro tiempos de remojo (24, 48, 72 y 96 horas) en la germinación de semillas.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	p - Valor
AG3 (A)	2	120.22	60.11	0.859 NS	0.4351
Tiempo (T)	3	11.56	3.853	0.055 NS	0.9826
A*T	6	205.11	34.185	0.489 NS	0.8107
(A*T) VS Testigo	1	2.19	2.19	0.031 NS	0.8609
Error	26	1818.67	69.95		
Total	38	2157.74			

CV = 13.6 %

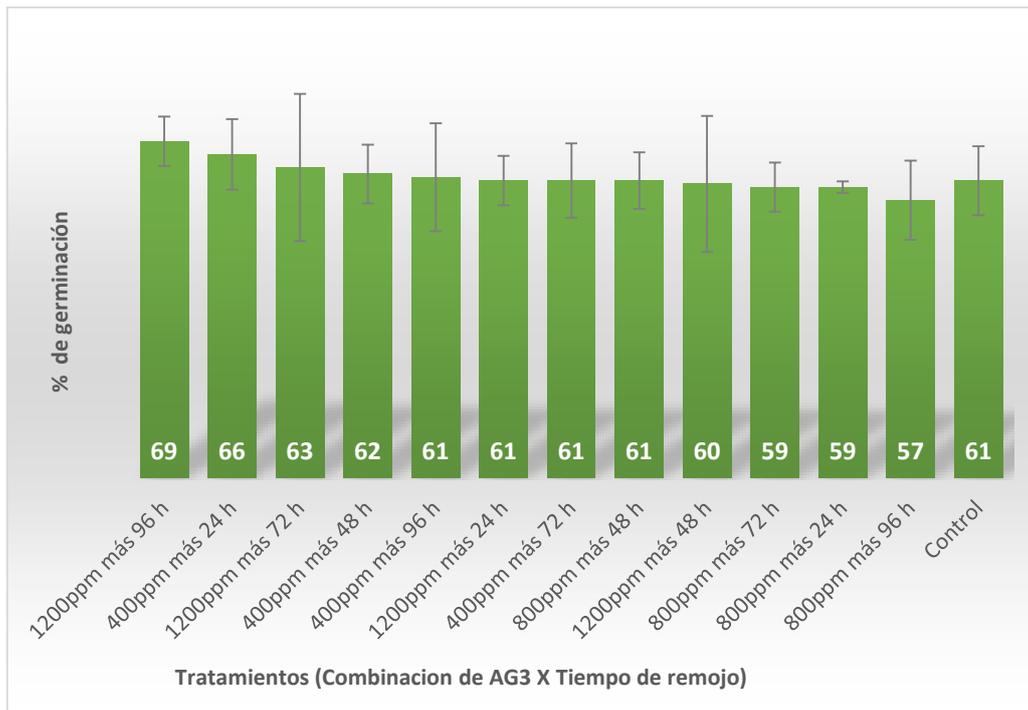


Figura 10. Porcentaje de germinación de semillas de valeriana, con 3 concentraciones (400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm) de AG₃ y 4 tiempos de remojo (24, 48, 72 y 96 horas) en la germinación de semillas.

4.3. Efecto de la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana

El análisis de varianza (ANOVA), indicó alta significación estadística al 1% de probabilidad, para los tratamientos en estudio (oscuridad y luz), lo cual indica que éstos causan un efecto significativo en el porcentaje de germinación (Tabla 7),

El coeficiente de variabilidad (CV = 10.75 %) indica la variabilidad del material experimental. Esta variabilidad posiblemente se debe al estado fisiológico de las semillas (viabilidad y al estado de latencia) asociados a otros posibles factores que afectaron el porcentaje de germinación. Como producto de dicha asociación se encontró que el porcentaje de germinación dentro de un mismo tratamiento fue variado.

Al realizar la prueba de la LSD o prueba de T (Tabla 8 y Figura 11), se observa que se encuentra mayor porcentaje de germinación bajo luz (47 %), siendo este

resultado estadísticamente superior al porcentaje encontrado bajo oscuridad (11 %) en 30 días y bajo condiciones de laboratorio.

Según nuestro estudio, la oscuridad no ejerce efecto positivo en la germinación de semillas de *V. pilosa*, como se pensaba, partiendo de la experiencia en *V. officinalis*. Hartmam y Kester (1980) menciona que *Valeriana officinalis* alcanza 65 % de germinación, cuando se somete a 20 días de oscuridad y a temperatura ambiente de 20°C. La diferencia en la respuesta puede deberse a que ésta última es una especie domesticada y *V. pilosa* es una especie silvestre. Los antecedentes indican que la luz o la oscuridad pueden ser requeridas para la germinación o puede provocar su inhibición (La Cuadra 1993, Rossetti 2014).

Según la clasificación de Pérez (1999), las semillas de *Valeriana pilosa* presentan *fotosensibilidad positiva*, es decir que germinan en presencia de luz, siendo la oscuridad un factor que afecta negativamente la germinación.

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) del ensayo sobre el efecto de la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	F cal	F tabular	
					0.05	0.01
Tratamientos	1	3225.98	3225.98	324.22**	5.32	11.26
Error	8	79.57	9.95			
Total	9	3305.54				

CV = 10.75 %

Tabla 8. Prueba de la LSD o prueba de T, para el ensayo sobre el efecto de luz y la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

Tratamientos	Germinación (%)	Significación al 5 %
Luz	47	A
Oscuridad	11	B

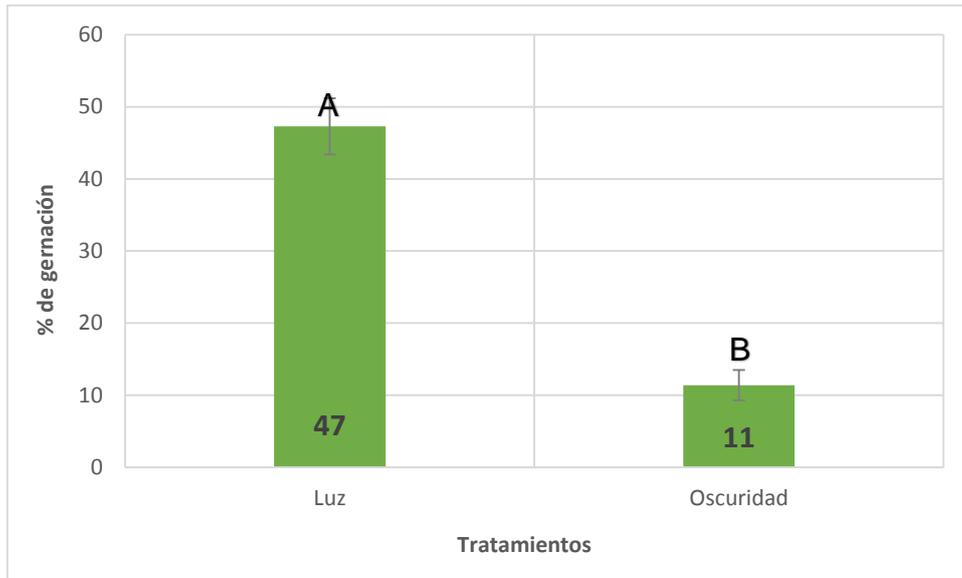


Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas del ensayo sobre el efecto de luz y la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye:

- El hipoclorito de sodio, en combinación con el factor tiempo de remojo, causa un efecto significativo en el porcentaje de germinación. Las mejores combinaciones fueron hipoclorito de sodio al 2 % con 5 y 10 minutos de remojo, con los cuales se encontró 66 % y 63 % de germinación, respectivamente, sin diferencia estadística entre ellos. El menor porcentaje de germinación correspondió al control (13 % de germinación). El hipoclorito de sodio ejerce efecto positivo sobre la germinación de la valeriana, incrementa el porcentaje de germinación en 81 %, respecto al control.

- El ácido giberélico en tres concentraciones (400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm) y el tiempo de remojo (24, 48, 72 y 96 horas respectivamente) no tienen efecto significativo en el porcentaje de germinación de semillas de valeriana. La combinación de estos factores no tuvo efecto significativo sobre la germinación, de modo que la combinación de los factores y el testigo no presentaron diferencias estadísticas significativas.

- La oscuridad, tuvo efecto negativo en el porcentaje de germinación de semillas de valeriana, produjo una disminución de la germinación de 47 % a 11 %. Por lo tanto, las semillas de esta especie presentan fotosensibilidad positiva, es decir, germinan en presencia de luz.

5.2. Recomendaciones

- Emplear hipoclorito de sodio al 2 %, con un tiempo de remojo de 5 o 10 minutos, para obtener un buen porcentaje de germinación en semillas de valeriana.

- Ensayar otros tratamientos pregerminativos con el propósito de incrementar el porcentaje de germinación.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Abou, H. 2007. Effect of scarification, gibberellic acid scarification on seed germination of three pistacia species. Revista Colombiana Conexión Agropecuaria: 21: 1-11.

Arias, A. 2013. Fenología reproductiva de *Valeriana prionophylla* (Valerianaceae) y un caso de herbivoría en el páramos de Costa Rica. Consultado 23/08/16. Disponible en <http://investiga.uned.ac.cr/revistas/index.php/cuadernos/article/viewFile/628/525>

Berjak, P; Pamenter, NM. 1997. Semillas ortodoxas y recalcitrantes. Sudáfrica. Consultado 29/08/16. Disponible en [file:///C:/Users/ruve/Downloads/Semillas%20Ortodoxas%20y%20Recalcitrantes%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/ruve/Downloads/Semillas%20Ortodoxas%20y%20Recalcitrantes%20(3).pdf)

Brako, L. & Zarucchi, J. 1993. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Monografías en Botánica Sistemática. Missouri Botanical Garden. Vol. 45.

Bussmann, RW. & Sharon, D. 2009. Shadows of the colonial past – diverging plant use in Northern Peru and Southern Ecuador. 1186/1746-4269-5-4.

Bussmann, RW; Sharon, D & Ly, J. 2008. From Garden to Market The cultivation of native and introduced medicinal plant species in Cajamarca, Peru and implications for habitat conservation. Disponible en: www.Ethnobotanyjournal.org/vol6/i1547-3465-06-351.pdf

Cárdenas, A; Sánchez, S; Tinajero, M; Gonzales, VM; Varguez, L. 2012. Hipoclorito de sodio en irrigación radicular: sondeo de opinión y concentración en productos comerciales. Revista odontológica Mexicana. 16(4): 252-258.

Cossio, L. 2013. Guía de estudio – reguladores de crecimiento- cátedra de fisiología vegetal. Consultado el 17/09/16. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/GuiadeestudioGerminacion.pdf>

Chávez, T. 1987. Biología curso básico. 8 ed. Lima-Perú, Edit. Princesa. 668p.

Courtis, AC. 2013. Guía de estudio – germinación de semillas- cátedra de fisiología vegetal. Consultado el 15/09/16. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/GuiadeestudioGerminacion.pdf>

Cristina, M. 1980. Manual Chino de plantas medicinales uso y dosificación. México., Edit. Concepto. 150 p.

Duarte, O. s.f. Propagación sexual de las plantas. Nets editores, Lima, PE. 58 p.

Deaquiz, Y; Burgos Y. 2013. Efecto de la aplicación de giberelinas (GA3) sobre germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Variedad Santa Cruz. Revista Colombiana Conexión Agropecuaria.

La Cuadra, C. 1993. Germinación, latencia y dormición de las semillas. Hojas divulgadoras, Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación, Madrid 3(1): 1-24. Consultado 29/07/16. Disponible en http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf.

Dini, M.R. 2013. Study of two treatments on the germination of *valeriana officinalis* L.S seeds in two growth media. 5(5):232-236.

Figuerola, JA; Vásquez, C. 2013. Efecto de la calidad de la luz sobre la germinación de semillas en el árbol pionero tropical *Heliocarpus appendiculatus* (Tiliaceae). 50(1): 31-36.

Hartman, H; Kester, D. 1980. Propagación de plantas. 2 ed. México, Edit. Continental S.A. 760p.

Holman, SM, Robbins, W. 1982. Botánica general. Trad. E. Beltrán. México, D.F., Edit. UTEHA.S.A. 632p.

Jardín Botánico José Celestino Mutis. 2012. Anexo 1. Protocolo *in vitro* 2008-2011. Proyecto sustentable en los recursos vegetales del distrito capital. Pp.38-46. Consultado 20-07-16. Disponible en https://www.google.com.pe/?gfe_rd=cr&ei=2nivvaLDluM-glup-san-4cg#g=anexi+1.

Córdoba, SL. 2007. Protocolo de propagación de las 40 especies priorizadas en el proyecto de uso sostenible de los recursos naturales del distrito capital y la región. Pp. 3-6. Consultado el 20-07-16. Disponible en <https://www.google.com.pe/?gfe rd=cr&ei=2nivvaLDluM-glup san 4cg#g=anexi>.

Lira Saldivar, RH. 1994. Fisiología vegetal. ed. México, D.F., Edit. Trillas S.A. MEX. 237p.

Machuca, CE. 2012. Comparativo de cuatro dosis de compost y dos tipo de hijuelos en la propagación de valeriana (*Valeriana pilosa* Ruiz & Pavón), en área de cierre de Mina- Yanacocha - Cajamarca. Perú. Universidad Nacional de Cajamarca. 59p.

Mader, SS. 2008. Biología. Trad. NA Moreno. 9 ed. México, D.F., Edit. Mc Graw-hill/interamericana companies. 884p.

Maciel, N; Bautista, D. 1996. Efectos de la luz sobre la germinación de la Parchita. *Agronomía tropical* 46 (1): 73 – 83.

Mejía, AL. 2005. Análisis farmacológico y cromatográfico comparativo del contenido de valepotriatos y ácidos valerenicos entre *V. officinalis* L. *V. pavnii* Poepp. & Endl. Para establecer parámetros de calidad en la elaboración de fitoterapéuticos. *Documenta Clínica* 18 (1-2):11-25.

Molist, P; Pombal, MA; Mejías, M. 2011. Atlas de histología vegetal y animal: órganos vegetales – semillas. Consultado 27/08/16. Disponible en <http://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/o-v-semilla.pdf>.

Muñoz, F. 2002. Plantas medicinales y aromáticas. Mundi Prensa Mexico. Edi. 4ª. 369 p. México.

Pece, MG; Acosta, MM; Sobrero, M. 2013. Influencia de la temperatura y la luz sobre la germinación de *Cercidium praecox* (Ruiz y Pav.ex Hook.) Harms subsp. *Praecox*. 57(1): 29-35.

Pérez, F. 1999. Dormición de semillas. Hojas divulgadoras Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación, Madrid 2103 (1): 1-20. Consultado 25/07/16. Disponible en <http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigita>

les/80402_material_vegetal_de_reproduccion__manejo_conservacion_y_tratamiento/80402/7_germinacion_y_dormicion_de_semillas.pdf.

Querol, L. 1988. Recursos genéticos, Nuestro Tesoro olvidado. Aproximación técnica y socioeconómica. Industrial gráfica S.A. Lima, Perú. 218p.

Ramírez, JP; Terán RT; Sánchez I; Seminario J. 2006. Etnobotánica de la “Valeriana” (*Valeriana* spp.) en la Jalca de Cajamarca, Perú. *Arnaldoa* 13(2): 368-379.

Rojas, M. y Ramírez, H. 1993. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Fisiología – tecnología de experimentación. 2 ed. Edit. Limusa, S.A. 263p.

Rosseti, S. 2014. Análisis de factores que afectan la germinación de semillas de *Panicum coloratum*. Tesis Ingeniero en producción pecuaria. Argentina. Universidad Católica de Argentina. Consultado 23-08-16. Disponible en <http://bibliotecadigital.Uca.edu.ar/repositorio/tesis/analisis-factores-germinacionpanicum.pdf>.

Rumay, L. 2010. Ensayo de cinco formas de manejo de valeriana (*Valeriana pilosa* Ruiz & Pavón) en Huanico-Cajamarca. Tesis Ingeniero Agrónomo. Cajamarca, Perú. Universidad Nacional de Cajamarca. Pp 6- 41.

Salisbury, FB. 1992. Fisiología de las plantas: desarrollo de las plantas y desarrollo ambiental. Trad. JM Alonso. Madrid – España, Edit. Thomson Spain. 988p.

Sánchez, I. 2011. Especies medicinales de Cajamarca. Martínez Compañón. Cajamarca-Perú, Edit. S.R.L. Pp 266-268.

Seminario, JF; Rumay, LD; Seminario, A. 2016. Biología de *Valerina pilosa* R. y P. (Valerianaceae): una especie en peligro de extinción de las altas montañas de Perú. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*: 15 (5):337-351.

Siobhan, MB; Mccourt, P. 2003. Hormone cross-talk in seed dormancy. *Plant Growth Regul*: 22:25-31.

Suarez, D; Melgarejo, LM. s.f. biología y germinación de semillas. Consultado el 20/08/16. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co/8545/4/03_Cap01.pdf.

Terán, EB. 2002. Efecto del ácido giberélico y se del contenido de humedad sobre la germinación de la semilla de Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Honduras. Consultado el 20-08-16. Disponible en <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2096/1/T1776.pdf>.

Taiz, L; Zeiger, E. 2006. Fisiología vegetal. 4 ed. Argentina., edit. Sinauer Associates Publiser, Sunderland. 876p.

Universidad Politécnica de Valencia. Fitorreguladores. Consultado el 23/06/2017. Disponible en: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/temas/tema_14.htm

Weaver, R. 1996. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. 8 ed. Edir. Trillas. Mexico. 622p.

Valdez, MH. 2017. Caracterización morfológica y germinación de la semilla de Valeriana (*Valeriana pilosa* R&P.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Cajamarca, Perú. Universidad Nacional de Cajamarca. 69 p.

Vázquez, C; Orozco, A; Rojas, M; Sánchez, ME; Cervantes, V. S.F. la reproducción de las plantas: semillas y meristemas. Consultado 28/08/16. Disponible en: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>

ANEXOS



Figura 12. Evaluación del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1, 2 y 3 %) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana.



Figura 13. Evaluación del Porcentaje de germinación de semillas con tres concentraciones (400, 800 y 1200 ppm) de AG_3 y cuatro tiempos de remojo (24, 48, 72 y 96 horas) en la germinación de semillas.

Tabla 9. Porcentaje de germinación de semillas de Valeriana del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1, 2 y 3 %) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana (Datos originales).

NaCl (%)	1			2			3			Testigo
Tiempo remojo (min.)	5	10	15	5	10	15	5	10	15	
	32	30	46	72	62	34	46	36	18	10
	46	40	50	58	58	46	48	38	24	16
	22	36	42	70	68	38	42	36	22	12
TOTAL	100	106	138	200	188	118	136	110	64	38
PROM.	33.33	35.33	46	66.67	62.67	39.33	45.33	36.67	21.33	12.67
DS.	12.06	5.03	4.00	7.57	5.03	6.11	3.06	1.15	3.06	3.06

Tabla 10. Porcentaje de germinación de semillas de Valeriana del ensayo sobre el efecto del hipoclorito de sodio (1, 2 y 3%) y tres tiempos de remojo (5, 10 y 15 minutos), en la germinación de semillas de valeriana (Datos transformados con $Y = \text{Arcosen}\sqrt{(P\%)}$).

NaClO (%)	1			2			3			Testigo
Tiempo remojo (min.)	5	10	15	5	10	15	5	10	15	
	34.45	33.21	42.71	58.05	51.94	35.67	42.71	42.71	35	18.43
	42.71	39.23	45	49.6	49.6	42.71	43.85	38.06	29.33	23.58
	27.97	36.87	40.4	56.79	55.55	38.06	40.4	36.87	27.97	20.27
TOTAL	105.13	109.31	128.11	164.44	0.55	116.44	126.96	117.64	92.3	62.28
PROM.	35.04	36.44	42.70	54.81	52.36	38.81	42.32	39.21	30.77	20.76
DS.	7.39	3.03	2.30	4.56	3.00	3.58	1.76	3.09	3.73	2.61

Tabla 11. Porcentaje de germinación de semillas con tres concentraciones (400, 800 y 1200 ppm) de AG₃ y cuatro tiempos de remojo (24, 48, 72 y 96 horas).

AG3 Tiempo (horas)	400				800				1200				Testigo
	24	48	72	96	24	48	72	96	24	48	72	96	
I	72	62	64	54	60	64	64	64	66	44	78	74	60
II	58	56	52	56	58	54	60	48	60	68	48	68	54
III	68	68	66	74	60	64	54	58	56	68	64	64	68
TOTAL	198	186	182	184	178	182	178	170	182	180	190	206	182
PROM.	66	62	60.67	61.33	59.33	60.67	59.33	56.67	60.67	60.00	63.33	68.67	60.67
DS.	7.21	6.00	7.57	11.02	1.15	5.77	5.03	8.08	5.03	13.86	15.01	5.03	7.02

Tabla 12. Porcentaje de germinación de semillas del ensayo sobre el efecto de luz y la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana.

Repeticiones	Tratamientos	
	Luz	Oscuridad
1	62	6
2	46	4
3	48	4
4	56	2
5	58	4
Total	270	20
Prom.	50	4
DS	6.78	1.41

Tabla 13. Porcentaje de germinación de semillas del ensayo sobre el efecto de luz y la oscuridad, en la germinación de semillas de valeriana (Datos transformados con $Y = \text{Arcosen}\sqrt{(P\%)}$).

Repeticiones	Tratamientos	
	Luz	Oscuridad
1	51.94	14.18
2	42.71	11.54
3	43.85	11.54
4	48.44	8.13
5	49.6	11.54
Total	236.54	56.93
Prom.	47.308	11.386
DS	3.9	2.1

