

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



“VIABILIDAD EN SEMILLAS DE ALCACHOFA”

(Cynara scolymus L.)

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

OSCAR EDMUNDO RIVERA BOCANEGRA

LIMA - PERÚ

2024

La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)

Viabilidad en semillas de alcachofa (*Cynara scolymus* L.)

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	13%	4%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	5%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
3	rstudio-pubs-static.s3.amazonaws.com Fuente de Internet	1%
4	Submitted to University of Technology, Sydney Trabajo del estudiante	1%
5	revistas.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	bdigital.zamorano.edu Fuente de Internet	1%
7	amslaurea.unibo.it Fuente de Internet	<1%
8	www.dspace.espol.edu.ec Fuente de Internet	<1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMIA

“VIABILIDAD EN SEMILLAS DE ALCACHOFA”
(Cynara scolymus L.)

OSCAR EDMUNDO RIVERA BOCANEGRA

Tesis para optar el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. M. S. Andrés Casas Díaz
PRESIDENTE

Ing. Mg. Sc. Cecilia Figueroa Serrudo
ASESOR

Ing. Saray Siura Céspedes
MIEMBRO

Dr. Hugo Soplín Villacorta
MIEMBRO

LIMA – PERÚ

2024

DEDICATORIA

La memoria de mi esposa, FIORELLA símbolo de fuerza y fe, constancia y amor, por su lucha ante las adversidades de la vida. Ella, junto a mi hijo MAURICIO, por darme las fuerzas necesarias para no claudicar en el intento y cumplir con el objetivo trazado.

A mis padres, EDMUNDO y CARMEN por darme la vida y formarme como persona, con su amor y ejemplo de lucha. Me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A la Ing. Mg.Sc. Cecilia Figueroa Serrudo, asesora de la presente tesis, por sus orientaciones, consejos y amistad.

A la Dra. Mercedes Flores Pimentel, por sus sugerencias y observaciones requeridas en la parte de morfología de la semilla de *Cynara scolymus*.

Al Ing. Alfredo Beyer Arteaga por su apoyo en la evaluación e interpretación estadística referida a los datos encontrados en el presente trabajo.

Al Ing. Andrés Casas por brindarnos el material vegetal.

Empresa Hortisemillas (empresa proveedora de semillas de exportación)

Y a los profesionales del Área de Regulación en Semillas del INIA, representados por la Ing. Esther Ircañaupa Huamaní, por las facilidades brindadas en las consultas bibliográficas requeridas.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	OBJETIVOS	2
1.1.1	Objetivo general	2
1.1.2	Objetivos específicos	2
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	TAXONOMÍA.....	3
2.2	FAMILIA ASTERACEAE.....	3
2.2.1	Género <i>cynara</i>	5
2.3	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LA SEMILLA DE ALCACHOFA	6
2.4	LATENCIA	9
2.5	VIABILIDAD.....	11
2.5.1	Ensayos de germinación.....	11
2.5.2	Ensayo topográfico de tetrazolio.....	11
2.5.3	Radiografía con rayos X.....	13
2.6	GERMINACIÓN.....	13
2.6.1	Fases de la germinación	17
2.6.2	Tipos de germinación	20
2.6.3	Estructuras esenciales de las plántulas	21
2.6.4	Efectos del pericarpio, la temperatura y la interacción de ambas en la germinación de semillas de asteraceae.	23
2.6.5	Descripción general de las plántulas del género <i>cynara</i>	24
2.6.6	Descripción de plántulas anormales del género <i>cynara</i>	24
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1	ÁREAS DE EXPERIMENTACIÓN	26
3.2	MATERIALES Y EQUIPOS	26

3.3	METODOLOGÍA.....	27
3.3.1	Distribución de las semillas	27
3.3.2	Estudio morfológico.....	27
3.3.3	Ensayo de germinación	28
3.3.4	Ensayo de viabilidad	30
3.3.5	Diseño experimental.....	36
3.3.6	Parámetros evaluados.....	37
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	38
4.2	PROCESO DE GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS	40
4.3	ENSAYO DE GERMINACIÓN	42
4.3.1	Plántulas normales	44
4.3.2	Plántulas anormales.....	45
4.3.3	Aquenos con semillas frescas	45
4.3.4	Semillas duras	46
4.3.5	Semillas muertas	46
4.4	ENSAYO DE VIABILIDAD	47
V.	CONCLUSIONES.....	56
VI.	RECOMENDACIONES.....	57
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
VIII.	ANEXOS	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Relación de materiales y equipos para los ensayos.....	26
Tabla 2: Tratamientos del ensayo preliminar	32
Tabla 3: Tratamientos del ensayo final.....	34
Tabla 4: Evaluación general del ensayo de germinación	43
Tabla 5: Resultados de la prueba de viabilidad	50
Tabla 6: Resumen del porcentaje de viabilidad.....	51
Tabla 7: Análisis ANOVA para semillas viables según los factores P, T y P*T.	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Los frutos o aquenios de alcachofa	6
Figura 2: Cipsela y sus partes	7
Figura 3: Los frutos o aquenios de <i>Cynara cardunculus</i> , basiónimo de <i>Cynara scolymus</i> ..	8
Figura 4: Semilla de <i>Helianthus annuus</i>	9
Figura 5: Reacción de óxido reducción del tetrazolio	11
Figura 6: Patrones de tinción que pueden tomar los embriones en <i>Brachiaria spp.</i>	12
Figura 7: Niveles relativos de ABA y contenido hídrico durante el desarrollo de la semilla.....	15
Figura 8: Curva de absorción de agua de las semillas y las actividades metabólicas asociadas con las diferentes fases.	18
Figura 9: Germinación hipogea en <i>Pisum sp.</i>	20
Figura 10: Germinación epigea en <i>Helianthus sp</i> y <i>Phaseolus</i>	21
Figura 11: Estructuras esenciales de una plántula de dicotiledónea.....	22
Figura 12: Estructuras esenciales de una plántula de monocotiledónea.....	22
Figura 13: Cortes en cipselas de <i>Cynara</i>	28
Figura 14: Semillas en papel toalla enrollados y humedecidos.....	29
Figura 15: Recipiente con semillas dentro de cámara de germinación.	29
Figura 16: Tratamientos del ensayo preliminar a temperatura ambiente.	32
Figura 17: Tratamiento del ensayo preliminar a 20° C.	33
Figura 18: Preparación de los tratamientos con tetrazolio	34
Figura 19: Tratamientos en la estufa 30C°	34
Figura 20: Patrón de tinción para <i>Helianthus annuus</i> (Peretti, 1994)	35
Figura 21: Frutos enteros de <i>Cynara scolymus</i> L., medidas en papel milimetrado.....	38
Figura 22: Vista de la sección longitudinal de frente de la semilla de alcachofa.....	39

Figura 23: a) Embriones de semillas de alcachofa en lugol, medidos en papel milimetrado.....	39
Figura 24: Proceso de germinación de <i>Cynara scolymus</i> L.	41
Figura 25: Conteo de plántulas normales, anormales y semillas duras, frescas y muerta...	42
Figura 26: Porcentaje de plántulas y semillas por repetición.	43
Figura 27: Porcentaje total de plántulas normales, anormales y semillas frescas, duras, muertas.	44
Figura 28: Plántulas normales observadas en la prueba de germinación.	44
Figura 29: Plántulas anormales observadas en la prueba de germinación. raíz primaria atrofiada y geotropismo negativo.	45
Figura 30: Aquenios con Semillas frescas observadas en la prueba de germinación.....	46
Figura 31: (A), (B) Semillas duras observadas en la prueba de germinación.	46
Figura 32: Semillas muertas observadas en la prueba de germinación.	47
Figura 33: Tabla de medias - Interacción de las variables: Pericarpio vs. Horas de humedad	48
Figura 34: Semillas viables observadas en la prueba de tetrazolio.	48
Figura 35: Semillas no viables observadas en la prueba de tetrazolio.	49
Figura 36: Media de los niveles del factor (P) de semillas viables en la prueba de Tukey.	53
Figura 37: Media de los niveles del factor (T) de semillas viables en la prueba Tukey	54
Figura 38: Media de los niveles de la interacción de los factores (P*C) de semillas viables en la prueba Tukey	54

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Tamaños mínimos de muestra por especie para análisis de semillas (ISTA, 2009).....	63
Anexo 2: Tamaños mínimos de muestra de cada especie para análisis de semillas (Ministerio de Agricultura Pecuaria y Abastecimiento, 2009).....	64
Anexo 3: Parámetros para test de germinación (International Seed Testing Association 2016).....	64
Anexo 4: Instrucciones para realizar un test de germinación de semillas, por especie botánica (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009)	66
Anexo 5: Parámetros para test de viabilidad con tetrazolio (Ministerio de Agricultura Pecuaria y Abastecimiento, 2009).....	66
Anexo 6: Tetrazolium Testing Handbook.	68
Anexo 7: Procedimiento de corte en semillas de Asteráceas (ISTA, 2009).....	70
Anexo 8: Tabla de resultados de la prueba de viabilidad.....	70
Anexo 9: Resultados – Software R (versión 3.3.1):	72
Anexo 10: Imagen del sobre de la semilla de <i>Cynara scolymus</i> L.....	86

RESUMEN

El cultivo de la alcachofa (*Cynara scolymus* L.) en el Perú y la región está generando una gran importancia económica, por ello, las empresas agrícolas y agroindustriales requieren de un respaldo técnico que les permita elegir la mejor semilla para su producción. El objetivo principal fue proponer una metodología estandarizada de la prueba de viabilidad por medio de la descripción morfológica de la semilla, la determinación del pretratamiento y la duración de la inmersión de la semilla en el tetrazolio. La metodología fue por etapas. La primera consistió en la descripción morfológica de la semilla, remojándola en agua y realizando cortes longitudinales, y transversales. La segunda etapa consistió en el ensayo de germinación, tomando 400 semillas en papel enrollado a temperatura alterna 20 -30 °C, durante 21 días. La última etapa fue el ensayo de viabilidad que tuvo dos experimentos; el primero consistió en un DCA con arreglo factorial combinando el sustrato para la humidificación (factor A), el estado del pericarpio (factor B), la temperatura de humidificación (factor C) y el tiempo de humidificación (factor D). El segundo ensayo consistió también en un DCA con arreglo factorial combinando dos factores: cubierta protectora (P) y tiempo de inmersión en el tetrazolio (T). En el análisis estadístico el factor principal (P) y la interacción (P * T) resultaron altamente significativos, mientras que el factor principal (T) fue significativo con un CV de 12.7 por ciento. Entre las conclusiones se indican que la semilla de alcachofa es una Cipsela que encierra a una semilla probablemente completa con germinación epigea. Además, se encontró que la forma más sencilla para remover el pericarpio previo a la tinción fue remojarla por 72 horas a 20 °C. Finalmente, los porcentajes más altos de viabilidad se obtuvieron entre 2 a 6 horas de inmersión en el tetrazolio.

Palabras claves: *Cynara scolymus*, viabilidad, tetrazolio, pericarpio.

ABSTRACT

The cultivation of artichoke (*Cynara scolymus* L.) in Peru and the region is generating great economic importance, therefore, agricultural and agroindustrial companies require a technical support that allows them to choose the best seed for their production. The main objective was to propose a standardized methodology of the feasibility test by means of the morphological description of the seed, the determination of the pretreatment and the duration of the seed immersion in the tetrazolium. The methodology was in stages. The first consisted in the morphological description of the seed, soaking it in water and making longitudinal and transverse cuts. The second stage consisted of the germination test, taking 400 seeds in rolled paper at an alternating temperature 20 -30 ° C for 21 days. The last stage was the feasibility trial that had two experiments. The first consisted of a DCA with a factorial arrangement combining the substrate for humidification (factor A), the state of the pericarp (factor B) and the humidification temperature (factor C). The second trial also consisted of a DCA with a factorial arrangement combining two factors: protective cover (C) and immersion time in the tetrazolium (T). In the statistical analysis, the main factor (C) and interaction (C * T) were highly significant, while the main factor (T) was significant with a CV of 12.7 percent. Among the conclusions are that the artichoke seed is a Cipsela that encloses a seed probably complete with epigeal germination. It was also found that the simplest way to remove the pericarp prior to staining was to soak it for 72 hours at 20 ° C. Finally, the highest percentages of viability were obtained between 2 to 6 hours of immersion in the tetrazolium.

Key words: *Cynara scolymus*, viability, tetrazolium, pericarp.

I. INTRODUCCIÓN

Según datos de la División de Estadística de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT), el cuarto mayor productor del planeta es Perú con 154.552 toneladas anuales. (FAOSTAT, 2023).

Las exportaciones peruanas de alcachofa cerraron el 2022 de manera positiva, con 58.319 toneladas enviadas por un valor de US\$ 162 millones. De esta forma, la alcachofa se convirtió en la segunda hortaliza más relevante en la canasta agroexportadora peruana, solo superada por el espárrago (Agraria.pe).

Por lo tanto, la determinación detallada y segura de la calidad de las semillas de alcachofa constituye una preocupación importante. Así, se han creado asociaciones internacionales con publicaciones periódicas para fomentar la comunicación entre los interesados sobre la tecnología de las semillas, tales como la Association of Official Seed Analysts (AOSA) en EUA y Canadá y la International Seed Testing Association (ISTA) en Suiza.

Frecuentemente, algunas semillas que presentan algún tipo de latencia no germinan aun estando bajo condiciones adecuadas de luz, temperatura y humedad. Por tanto, es necesario recurrir a otras pruebas que permitan saber si la semilla está viva o no y si van a ser capaces de desarrollar plántulas normales.

En consecuencia, la gran demanda de semilla de calidad por parte de las empresas exportadoras de alcachofa exige trabajar una propuesta para reducir el tiempo del análisis, que para la prueba de germinación tarda 28 días. En el ámbito del análisis de calidad de la semilla no está muy difundida la metodología estandarizada para la prueba de tetrazolio, la cual es más rápida para conocer la viabilidad de la semilla respecto al pretratamiento y la tinción de ésta. El alcance del estudio de la prueba de viabilidad en semillas de alcachofa consiste en identificar el mejor tipo de pretratamiento para obtener resultados rápidos y confiables.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

- Evaluar una metodología estandarizada de la prueba de viabilidad con tetrazol para semillas de alcachofa.

1.1.2 Objetivos específicos

- Describir la morfología de la semilla y del proceso de germinación de las semillas de alcachofa cv. Lorca.
- Determinar el tipo de pretratamiento de la semilla previo a la tinción.
- Establecer la duración de la inmersión de la semilla en el tetrazolio.
- Comparar el porcentaje estimado de viabilidad de la semilla con la prueba de tetrazolio, con el porcentaje de germinación.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 TAXONOMÍA

La alcachofa es una angiosperma dicotiledónea que pertenece a la familia *Asteraceae* y al género *Cynara*. Es una planta diploide, perenne y robusta; predominantemente de polinización cruzada, con una roseta característica de las hojas, cultivada por su cabezuela grande y carnosa (Nicho y Catacora, 2008).

La clasificación taxonómica según APG III (2009), APG IV (2016), Chase y Reveal (2009) y Haston et al. (2009) es la siguiente:

- Clase : Equisetopsida C. Agardh
- Subclase : Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden : Asteranae Takht.
- Orden : Asterales Link
- Familia : Asteraceae Bercht. & J. Presl
- Subfamilia : Carduoideae
- Tribu : Cynareae (Compositae)
- Género : *Cynara* L.
- Especie : *Cynara scolymus* L.

2.2 FAMILIA ASTERACEAE

Krurup y Konar (1997) señalan que la familia *Asteraceae* es una de las más numerosas del reino vegetal, con alrededor de 20 000 especies, entre las que se encuentran desde árboles, pasando por arbustos y subarbustos, hasta plantas herbáceas, con una amplia distribución mundial. Aunque un número reducido de ellas presenta utilidad agronómica, son una familia de gran importancia desde el punto de vista económico, incluyendo plantas comestibles y ornamentales. Entre las primeras se encuentra la alcachofa (*Cynara scolymus*), de la cual se utilizan las brácteas florales y el receptáculo, y el girasol (*Helianthus annuus*) cultivado por sus semillas oleaginosas. Entre las especies ornamentales podemos citar: *Senecio*, *Aster*, *Zinnia*, *Dahlia*, *Ageratum*, *Chrysanthemum*, *Argyranthemum*, *Gerbera*, *Tagetes*, *Calendula*, etc., de las que han sido seleccionadas artificialmente numerosas variedades y entre las

medicinales *Achillea millefolium*, *Artemisia vulgaris*, *Matricaria chamomilla*, *Centaurea cyanus* y otras muchas especies de uso local (Furnari et al.,).

Kraru y Moreira. (1998) añaden que en general, las hortalizas de la familia son originarias de regiones templadas, por lo que están adaptadas a crecer y desarrollarse en zonas de temperaturas moderadas. Las plantas cumplen su etapa vegetativa durante el período invernal y continúan, posteriormente, con la floración y fructificación hacia las estaciones más calurosas del año, pues estas etapas se relacionan con temperaturas más elevadas y días más largos. Sólo la especie *Helianthus tuberosus*, “alcachofa de Jerusalem” o “topinambur” está adaptada a desarrollarse bajo regímenes térmicos más elevados.

Las especies cultivadas como hortalizas son plantas herbáceas, anuales, bianuales y perennes. Su hábito de crecimiento es característicamente en roseta y muy determinado, por lo que en su mayoría son plantas de tamaño reducido. Las hojas son opuestas o alternas, sin estípulas. Al darse las condiciones adecuadas, el tallo se alarga iniciándose la etapa reproductiva. El antiguo nombre de la familia, Compositae, hace referencia a su estructura floral típica, que corresponde a un órgano que asemeja una flor pero que, en realidad, se compone de decenas de flores pequeñas. Morfológicamente es un tipo de inflorescencia denominada capítulo, con el pedúnculo de extremo superior más o menos engrosado y ensanchado en forma de receptáculo (clinanto), sobre el cual se disponen numerosas flores sésiles. El receptáculo puede ser plano, convexo o cóncavo, y está rodeado por un involucreo de una o más series de brácteas u hojas modificadas, herbáceas o coriáceas, e inermes o espinosas (Kraru y Moreira, 1998)

La flor misma se compone de una corola formada por la unión de cinco pétalos soldados en casi toda su longitud (gamopétala), de un cáliz modificado denominado papus o vilano, compuesto por pelos simples o plumosos, generalmente persistente en el fruto como una estructura de diseminación. El androceo presenta 5 estambres soldados por las anteras (singenesia), los que forman un tubo alrededor del estilo. El gineceo consiste en un ovario ínfero, bicarpelar y uniovulado, el que origina un fruto simple, indehiscente, uniseminado y de pericarpio coriáceo y seco, denominado aquenio (Kraru y Moreira, 1998).

La familia presenta dos tipos morfológicos bastante diferentes de flores: liguladas o radiales que presentan corola gamopétala, zigomorfa, alargada y vistosa, que asemeja una lengüeta, casi siempre son femeninas, y flores tubulosas o del disco que presentan corola gamopétala y actinomorfa, de forma cilíndrica. Generalmente son hermafroditas o masculinas.

El capítulo puede contener sólo flores tubulosas, sólo flores liguladas, o ambos tipos; las liguladas en la periferia y las tubulosas en el interior (Krarup y Moreira, 1998).

2.2.1 Género *cynara*

Cynara es un género de plantas perennes de la subfamilia Carduoideae dentro de la familia Asteraceae, y es el género tipo de la tribu *Cynareae*.

Comprende 49 especies descritas y, de estas, solo una decena están actualmente aceptadas como taxones válidos. Etimológicamente deriva de griego κινάρα o κινάρα kinára "alcachofa", derivado de κύων kión "perro", por las brácteas involucrales que por su forma se asemejan a los dientes de dicho animal. Pasó al latín como cinara, nombre que se usaba también para designar al cardo. El género es nativo del Mediterráneo occidental.

Son plantas herbáceas perennes espinosas, excepto las especies o variedades cultivadas que son inermes. Tienen tallos simples o ramificados distalmente, no alados o solo con alas discretas y más o menos estriados longitudinalmente; aunque también pueden ser acaules. Las hojas son alternas, sésiles o algo decurrentes, excepto las basales que son pecioladas. Pueden ser enteras, dentadas onduladas, pinnatífidas, bipartipinnadas y tienen bordes espinosos. Las inflorescencias son capítulos terminales, solitarios o en corimbos, con un involucre ovoide de 5-8 series de brácteas más o menos coriáceas e imbricadas, terminadas en apéndice apical más o menos triangular, erecto, patente o reflexo, espinoso o no. El receptáculo es plano o algo convexo, alveolado y con páleas cerdosas blanquecinas lisas. Las flores son flósculos generalmente hermafroditas con corola tubulosa y pentámera, más o menos zigomorfa, glabra, de color azul, violáceo o blanco, con tubo y limbo pentámero bien diferenciados. Los frutos son cipselas homomorfos, obovoides, glabras y de sección más o menos circular o tetragona, sin eleosoma y con pappus (vilano) caedizo, con filas de pelos blancos inferiormente plumosos y discretamente ásperos en su parte distal, soldados en un anillo basal (Davesa y Lopez, 2013).

Las especies y subespecies aceptadas son las siguientes:

- *Cynara algarbiensis* Coss. ex Nyman
- *Cynara auranitica* Post
- *Cynara baetica* Pau
- *Cynara cardunculus* L.

- *Cynara cardunculus* ssp. *cardunculus* = *Cynara cardunculus*: cardo (cultivado)
 - *Cynara cardunculus* ssp. *scolymus* = *Cynara scolymus*: alcachofa (cultivado)
 - *Cynara cornigera* Lindl.
 - *Cynara cyrenaica* Maire & Weiller
 - *Cynara gomerensis* Kuntze = *Cynaropsis gomerensis* Kuntze, Post. & Kuntze, Lexic., 158 (1903).
 - *Cynara humilis* Sibth. & Sm. Región Bereber de Marruecos y sur de Europa.
 - *Cynara syriaca* Boiss.
 - *Cynara tournefortii* Boiss. & Reut. Endemismo ibérico, incluido Portugal
- Es importante mencionar que el cultivar más difundido es el “Criollo” con espinas y se conocen el “Criollo Serrano”, y el “Criollo Costeño”.
 - Otras variedades: (Green Globe, Imperial Star, Cynara 507, A-100 y 777 (A-107), Blanca de Tudela, Violeta de Provenza, Camus de Bretagne, Romanesco, Lorca, Green Globe, Imperial Star, entre otros.
 - Imperial Star: Es un cultivar globo sin espinas, con brácteas notablemente brillosas. El brillo y el color de la bráctea verde grisácea le da al cultivo una apariencia distinta a la cabezuela floral.
- (Cultivo de alcachofa son espinas INIA, 2001).

2.3 DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LA SEMILLA DE ALCACHOFA

En las Asteráceas, la semilla surge de un óvulo anátropo. El fruto recibe el nombre de aquenio y consiste en una “pared resistente” rodeando una semilla. El aquenio, una vez despojado de su cáscara, lo único que libera es una semilla casi completamente desnuda (solo cubierta por una insinuante y delgada lámina semitransparente) (Fig. N°01).



Figura 1: Los frutos o aquenios de alcachofa

Fuente: (Soler, 2013)

Los frutos en Asteráceas también reciben el nombre de cipselas (o cypsela, plural cypselae o cypselas - del vocablo griego *Κυψελή* que significa: caja, cofre) es un término creado por el botánico francés Charles-François Brisseau de Mirbel en 1815, en su *Éléments de physiologie végétale et de botanique*, para un tipo de fruto seco indehiscente formado por un aquenio procedente de un ovario bicarpelar ínfero (hipoaquenio) con pericarpio duro separado de la semilla. Puede estar ocasionalmente ornamentado con pequeños ganchos para favorecer su adherencia al pelaje de animales (exozooecoria) o a otro tipo de superficies. Está a menudo coronado por una estructura apical, el vilano o papus, que es un penacho de restos del cáliz transformados en pelos o escamas, a veces aparasolados, que facilitan la dispersión por anemocoria (Botánica: términos ..., 2015) (Fig. N° 02).

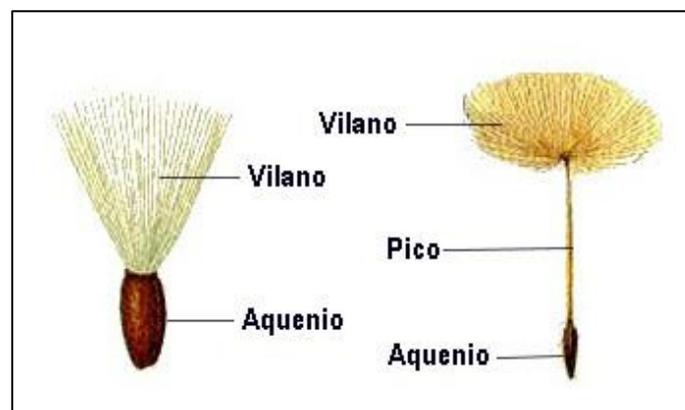


Figura 2: Cipsela y sus partes

Fuente: (Botánica: términos..., 2015)

Se aplica sistemáticamente como lo hacen los anglosajones, el término cipsela para los frutos de las Asteraceae en lugar de "aquenio", ya que en rigor no son aquenios, pues estos últimos son frutos que derivan de un ovario súpero unicarpelar, y los frutos de las Asteraceae derivan todos de un ovario ínfero bicarpelar (Botánica: términos ..., 2015).

Por lo que se puede afirmar que las denominadas "semillas" de alcachofa también serían cipselas. Nótese en la (Fig. N° 03) las cipselas de una especie de *Cynara*, que es conocida como un basiónimo de *Cynara scolymus*.

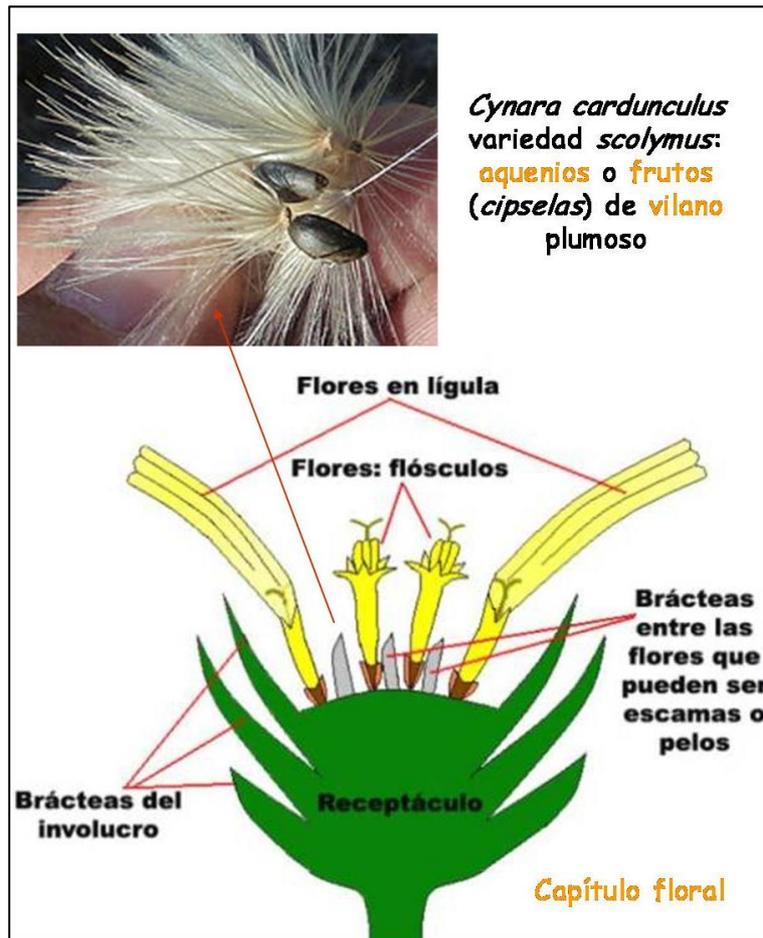
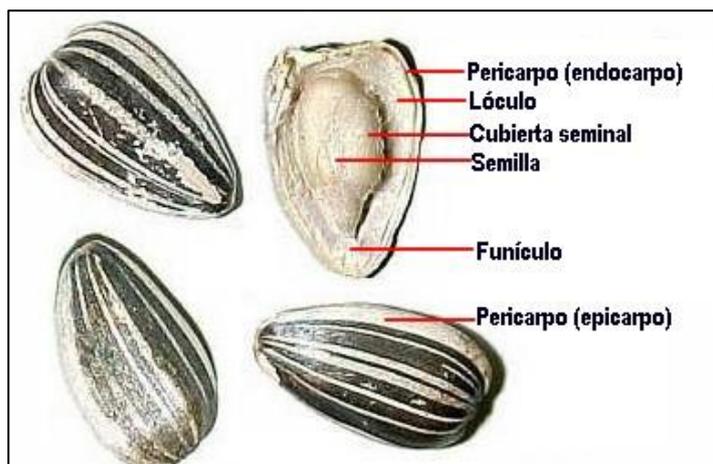


Figura 3: Los frutos o aquenios de *Cynara cardunculus*, basiónimo de *Cynara scolymus*

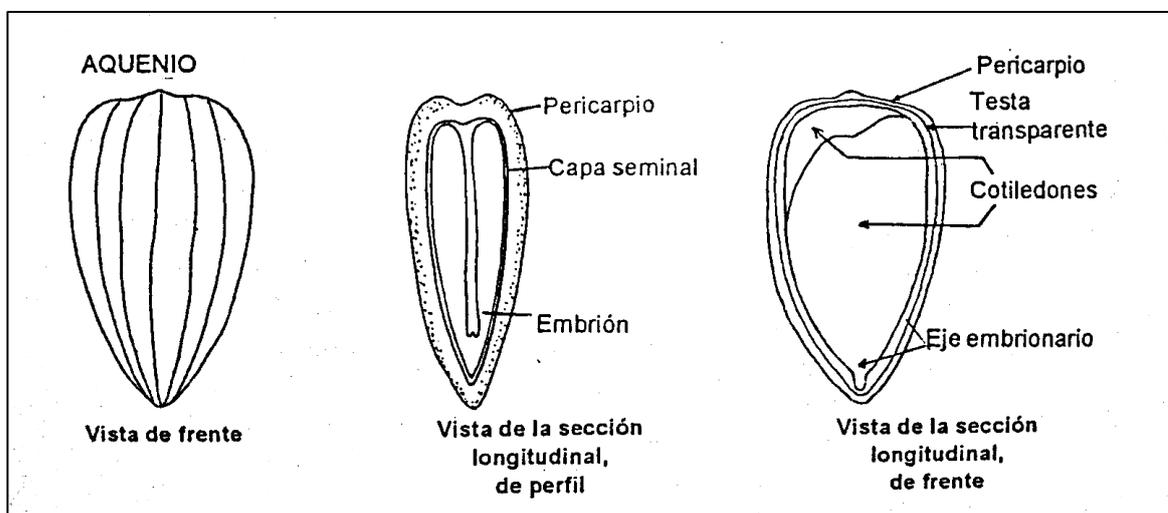
Fuente: (Soler, 2013)

En cuanto a la morfología de las cipselas y de las verdaderas semillas de la alcachofa, prácticamente no existe información, por lo que se muestran las partes del aquenio del girasol para tener una idea de su constitución interna (Fig. N° 04 a y b). Cabe destacar que, en el caso de la alcachofa, generalmente el pericarpio está casi pegado a la cubierta seminal o testa (transparente). Por ello es probable que el tegumento haya sido absorbido en el proceso mismo de la formación de la semilla.

La AOSA (2000) presenta gráficamente la morfología del embrión en Asteraceas, para especies como *Helianthus annuus*, no indica mayor referencia sobre la presencia del tegumento. En el anexo N° 07 se destacan los cotiledones, una membrana interna, un tejido externo y la radícula.



Fuente: (García, 2011)



Fuente: (Peretti, 1994)

Figura 4: Semilla de *Helianthus annuus*

En algunas semillas estas estructuras de la testa están ausentes pero lo que en realidad sucede es que se está observando el pericarpio de un fruto y no la testa, como por ejemplo en el caso de *Helianthus annuus* (el girasol, que pertenece a la familia de las compuestas) y de la lechuga (Moreno, 2003)

2.4 LATENCIA

El estado de **dormición, latencia o letargo** es definido como la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la germinación (Varela y Arana, 2011).

En estas semillas se manifiesta una baja capacidad y/o velocidad germinativa, en amplios intervalos de un entorno positivo para el crecimiento vegetal (Camacho, 2011). En particular, en el sector forestal se utiliza la palabra *latencia*, la cual proviene del latín “latensis” y significa oculto, escondido o aparentemente inactivo para referirse a esta incapacidad de la semilla a germinar, la cual puede constituir un problema por ejemplo para los programas de producción de plántulas en vivero. La latencia se establece durante la formación de la semilla, y posee una importante función que consiste en restringir la germinación en la planta madre antes de su dispersión en el campo. Además, se considera que la latencia es una adaptación que contribuye a la supervivencia del individuo, ya que restringe la germinación cuando los factores ambientales son desfavorables para el desarrollo de la plántula (Varela y Arana, 2011).

Es importante destacar que existe un amplio rango de intensidades de latencia, que va desde la latencia absoluta, en la cual la germinación no se produce bajo ninguna condición, pasando por intensidades intermedias, donde las semillas pueden germinar en un rango de condiciones ambientales estrecho (por ejemplo, cuando se incuban a cierta temperatura), hasta el extremo donde no hay latencia, y las semillas pueden germinar en un amplio rango de condiciones ambientales. Es necesario tener en cuenta que la latencia es un proceso dinámico. La intensidad de la latencia se encuentra influenciada por varios factores ambientales como son la temperatura, la humedad y el ambiente gaseoso, y a medida que el grado de latencia disminuye se amplía el rango de condiciones ambientales que permiten la germinación (Varela y Arana, 2011).

El nivel de latencia varía con la procedencia de las semillas, con el año de cosecha y varía incluso dentro de un mismo lote de semillas, de manera que, en condiciones naturales, la emergencia de las plántulas ocurre en “pulsos” en un rango del espacio y el tiempo, lo que favorece el desarrollo de los nuevos individuos en ambientes ligeramente distintos, contribuyendo así las posibilidades de regeneración y supervivencia de la especie (Varela y Arana, 2011).

Se cree que la latencia del embrión es debida a la presencia de inhibidores, especialmente ABA (ácido abscísico), así como a la ausencia de promotores de crecimiento, como GA (ácido giberélico). La pérdida de la latencia del embrión suele estar asociada al brusco descenso de la relación entre ABA y GA (Taiz y Zeiger, 2006).

2.5 VIABILIDAD

Pérez y Pita (1999) señalan que la viabilidad de un lote de semillas no latentes hace referencia a su capacidad de germinar y de originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables. La viabilidad se puede evaluar y cuantificar a través de los ensayos de germinación del test de tetrazolio y la radiografía con rayos X.

2.5.1 Ensayos de germinación

Si una semilla es viable y no presenta latencia germinará cuando se la ponga en las condiciones adecuadas de humedad, luz y temperatura. Por ello se acepta que la capacidad germinativa de un lote de semillas es un reflejo directo de su viabilidad.

Este tipo de ensayos se realizan colocando las semillas sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, en placas petri o en bandejas, incubándose, a continuación, en cámaras de germinación con control de temperatura e iluminación.

La emergencia de las estructuras esenciales es el criterio que se suele utilizar para determinar si una semilla ha germinado, expresándose los resultados obtenidos como porcentaje de plántulas normales (porcentaje de germinación) (Pérez y Pita, 1999).

2.5.2 Ensayo topográfico de tetrazolio

Entre las sustancias más frecuentemente usadas para detectar la actividad metabólica de las semillas se encuentran las sales de tetrazolio.

Las soluciones de estas sales (cloruro o bromuro de 2, 3,5-trifeniltetrazolio) son incoloras, pero cuando se reducen se transforman en trifenilformazán, una sustancia estable, no difusible y de un color rojo intenso (Fig. N° 05).

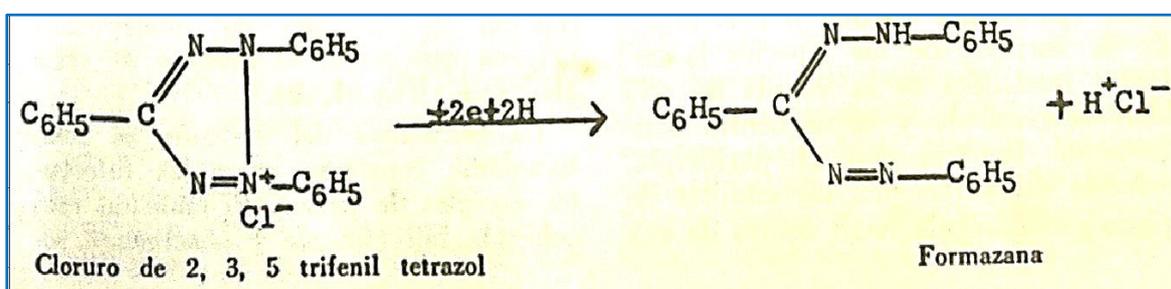


Figura 5: Reacción de óxido reducción del tetrazolio

Fuente: (Delouche, et al., 1971)

Pérez y Pita (1999) indican que este ensayo es especialmente indicado para conocer la viabilidad de semillas que presentan latencia, o con una velocidad de germinación muy baja. El ensayo de tetrazolio presenta las ventajas de poder realizarse rápidamente y no requiere un equipamiento muy sofisticado. La metodología de este ensayo ha sido puesta a punto para numerosas especies de plantas cultivadas, por la *International Seed Testing Asociación*, (2009) y las Regras para Análise de Sementes, (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (2009) (Fig. N° 06).

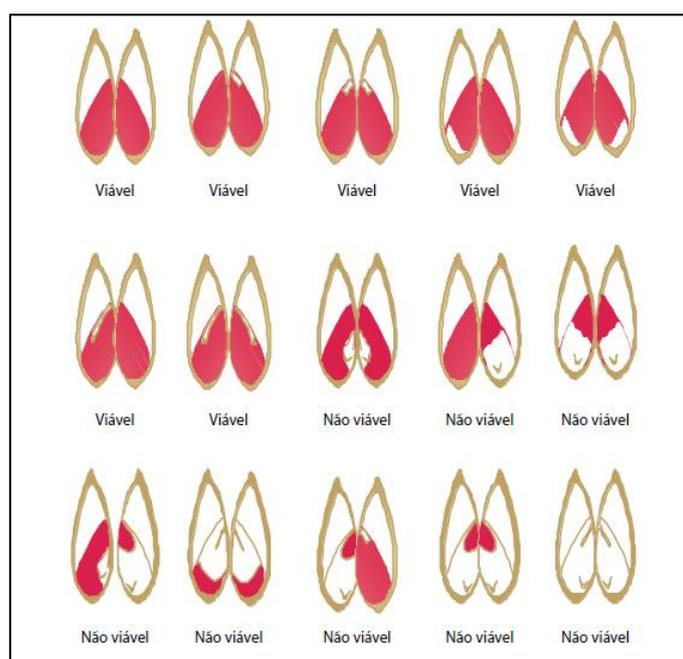


Figura 6: Patrones de tinción que pueden tomar los embriones en *Brachiaria spp.*

Fuente: (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

El ensayo está basado en que una vez lograda la hidratación de los diferentes tejidos de la semilla, en el embrión se activan rutas metabólicas, donde muchas de las reacciones químicas empleadas son reacciones de oxidación. En estas reacciones se liberan electrones capaces de reducir a ciertas sustancias químicas. Este hecho puede ser utilizado para estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por tanto de su viabilidad (Pérez y Pita ,1999).

Al colocar una semilla viable en contacto con una solución de tetrazolio, los electrones liberados, en los tejidos del embrión, reducirán a las sales de tetrazolio, con lo que estos adquirirán un color rojo intenso; si la semilla no es viable, el embrión no cambiará de color. A veces, los embriones se colorean parcialmente, lo que indica la existencia de áreas de tejidos muertos, debido al deterioro de la semilla. En estos casos, la posición y el tamaño de

las áreas necróticas, y no necesariamente la intensidad del color es el índice que se utiliza para clasificar a las semillas como viables o no viables (Pérez y Pita ,1999).

La viabilidad de las semillas se evalúa mediante la comparación de las áreas coloreadas del embrión con los patrones de tinción establecidos por los organismos oficiales para el control de calidad de las semillas.

2.5.3 Radiografía con rayos X

Es un ensayo rápido y no destructivo que se suele emplear para evaluar la viabilidad de semillas de especies forestales. Presenta el inconveniente de que es necesario un equipamiento costoso para su realización. En las radiografías que se obtienen se pueden diferenciar entre semillas sin embriones (semillas vanas), de las que tienen un embrión bien formado; así como distinguir si en el embrión existen malformaciones o algún tipo de daño: mecánicos, por insectos, etc. (Pérez y Pita, 1999).

2.6 GERMINACIÓN

Las semillas viables generalmente comienzan a germinar cuando se las sitúa en condiciones adecuadas de humedad, temperatura, oxígeno y en algunos casos luz (factores externos). En primer lugar, las semillas absorben agua, los tejidos se hinchan y la cubierta seminal se vuelve blanda y elástica. La raíz primaria atraviesa la cubierta seminal y se alarga con rapidez; los pelos radicales son abundantes, por lo general, desde los primeros estados de desarrollo. Posteriormente se forman las raíces secundarias. El desarrollo del sistema apical se produce a continuación (Bekendam y Grob, 1980).

- **Disponibilidad de agua**

Una semilla tiene que disponer de agua para poder germinar. El agua es el factor ambiental más limitante para la germinación y debe estar disponible en una cantidad adecuada, ya que tanto su exceso como su defecto traen consecuencias negativas para la germinación.

- **Temperaturas adecuadas**

Respecto a la influencia que la temperatura tiene sobre la germinación cabe destacar que, para cada especie existe una temperatura máxima, por encima de la cual sus semillas no podrán germinar, una temperatura óptima a la cual las semillas germinan mejor y con mayor rapidez, y una temperatura mínima, por debajo de la cual las semillas de esa especie no pueden germinar.

- **Presencia o ausencia de luz**

En muchos casos, las semillas germinan indiferentemente bajo la luz o en la oscuridad. Sin embargo, muchas semillas solo germinarán en presencia de luz, mientras que la germinación de otra queda fuertemente inhibida por efecto de la misma.

La germinación incorpora aquellos eventos que se inician con la absorción de agua por la semilla seca y terminan con la elongación del eje embrionario. El proceso concluye cuando la radícula penetra y atraviesa las estructuras que rodean al embrión, lo que frecuentemente se conoce como “germinación visible”.

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

- **Promotores de la germinación**

Los principales promotores de la germinación son la giberelina, el ácido indolacético y las citoquininas, compuestos que están presentes en pequeñas cantidades en la semilla y su síntesis responde a sus características genéticas y respuestas específicas al medioambiente (por ejemplo, fitocromo 660 nm promueve la formación de giberelina y esta a su vez desencadena la germinación) (CATIE, 1996).

La giberelina estimula la germinación, su velocidad y a la vez que estimula el crecimiento de la plántula. La respuesta de esta hormona puede variar con cada especie (CATIE, 1996). Las giberelinas superan la latencia en semillas, actuando como sustituto de bajas temperaturas, días largos o luz roja. En las semillas, uno de los efectos de las giberelinas es estimular la elongación celular, de manera que la radícula pueda empujar a través del endospermo, la cubierta seminal que restringe su crecimiento (Salisbury y Ross, 1994).

- **Inhibidores de la germinación**

Los inhibidores de la germinación de semillas son sustancias químicas y pueden ser producidas o traslocadas a la semilla para bloquear el crecimiento del embrión (Courtis, 2013).

El ácido abscísico (ABA) es uno de los inhibidores más importantes. El desarrollo embrionario es dependiente del ABA. Este proceso se puede dividir en tres etapas: mitosis y diferenciación celular, expansión celular y acumulación de reservas (proteínas, grasas,

almidón) y maduración, proceso en el que las semillas se secan y pasan a un estado de dormición.

El ABA inhibe la germinación precoz y el viviparismo, es decir, por qué no germinan o pueden no germinar precozmente en frutos húmedos en la planta madre (Azcon- Bieto y Talon, 2008).

Aunque en las semillas existen varios mecanismos de latencia, hay diversos datos que indican que el ABA desempeña un papel importante en este proceso. Primero, la correlación entre las concentraciones bajas de ABA y la germinación precoz en cultivos de embriones. Segundo, el ABA exógeno impide la germinación de los embriones inmaduros de varias especies cuando se cultivan in vitro. Tercero, cuanto más altos son los niveles de ABA endógeno, mayor es la sensibilidad al ABA. Finalmente, los mutantes deficientes en ABA presentan una fase de latencia más corta o germinan, incluso cuando se encuentren en el fruto. Además, la aplicación de un inhibidor de la biosíntesis del ABA (fluoridona) a semillas en desarrollo previene la latencia del embrión.

Por lo tanto, el aumento de los niveles endógenos de ABA al final de la embriogénesis está claramente relacionado con el inicio de la maduración y con la inhibición de la germinación precoz (Fig. N° 07).

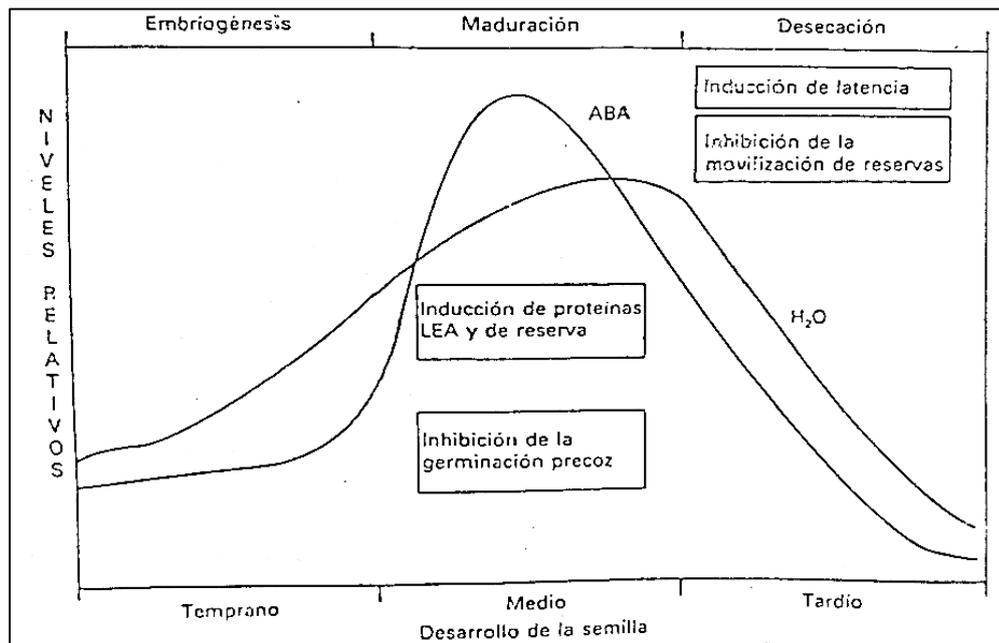


Figura 7: Niveles relativos de ABA y contenido hídrico durante el desarrollo de la semilla

Fuente: (Azcon-Bieto y Talon, 2008).

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

Existen otras sustancias derivadas del metabolismo secundario de la planta tales como: los compuestos orgánicos aromáticos (fenólicos, benzoicos, cofactores de AIA oxidasa, difenólicos), los compuestos derivados de las lactonas (cumarina, escopoletina, juglona) y el inhibidor β (ácido abscísico + inhibidor) que actúan como inhibidor es de la germinación.

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 (Courtis, 2013).

- **Embrión fisiológicamente inmaduro**

Este tipo de latencia o dormancia se debe, fundamentalmente, a una disminución en la actividad enzimática de los embriones (Courtis, 2013).

En los cereales este tipo de latencia es frecuente, impidiendo que las semillas germinen luego de cosechadas, aunque el embrión este perfectamente formado. Durante el almacenaje en sitio seco van perdiendo esta dormición, lo que convierte a esta latencia en un carácter fitotécnico deseable (Courtis, 2013).

El período de duración de latencia puede variar desde algunas semanas hasta varios meses, de ahí que existen cultivares que germinan en planta (vivíparos) y otros permanecen inalterables aún en condiciones adecuadas para la germinación. Existen métodos artificiales para romper esta latencia, por ejemplo, métodos térmicos, químicos, entre otros (Courtis, 2013).

- **Presencia de tegumentos duros**

En este caso, las semillas no pueden germinar o la germinación se ve retrasada por tener tegumentos duros (Courtis, 2013).

Los tegumentos pueden ser duros debido a la impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas, sustancias pécticas insolubles (Leguminosas); impermeabilidad al oxígeno por presencia de fenoles sustancias ávidas de O₂ que lo atrapan y no permiten que llegue al embrión (*Xanthium*); resistencia mecánica a la expansión del embrión por contener un estrato de esclereidas con paredes secundarias muy lignificadas (*Brassica*) e impedir la difusión de los inhibidores fuera de la semilla (*Guayule*).

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

2.6.1 Fases de la germinación

En 1957, Evenari dividió el proceso de germinación en tres fases. En la **FASE I** ocurre la imbibición, que consiste en la absorción del agua necesaria para la rehidratación de proteínas y organelas celulares, así como para el transporte y para que ocurran las reacciones hidrolíticas. En la **FASE II** se produce la activación del metabolismo, donde ocurre la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. También se incrementan las actividades enzimáticas, así como la degradación inicial de las reservas. Finalmente, en la **FASE III** tiene lugar la emergencia de la radícula (creciendo visible), concluyendo el proceso germinativo, ya que el crecimiento subsecuente se considera un proceso separado (Fig. N° 08).

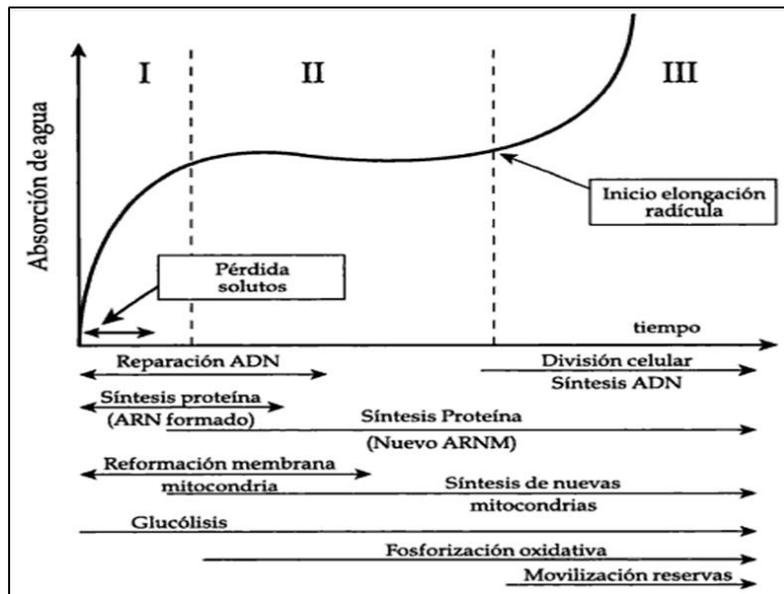


Figura 8: Curva de absorción de agua de las semillas y las actividades metabólicas asociadas con las diferentes fases.

Fuente: (Herrera et. al., 2006).

Dentro de los requerimientos ambientales necesarios para la germinación se consideran esenciales el agua, el oxígeno y la temperatura. En ausencia de alguno de estos factores, la mayoría de las semillas se mantendrían en un estado quiescente, aún sin reposo. En el caso de las semillas recalcitrantes, se produciría una rápida disminución de la longevidad de la semilla.

Según Herrera et al. (2006) las fases de la germinación se explican de la siguiente manera:

- **FASE I: Imbibición**

Con el ingreso de agua a la semilla durante la fase I, se producen en forma temporal, alteraciones estructurales importantes, en particular en las membranas. En la semilla seca, los componentes fosfolípidos de la membrana se encuentran en la fase de gel, por lo que no están en su condición normal, lo que provoca una salida inicial mayor de solutos y de metabolitos de bajo peso molecular hacia la solución que rodea a la semilla. No obstante, con la rehidratación las membranas retornan rápidamente a un estado cristalino hidratado, condición más estable, por lo que prácticamente cesa la pérdida de solutos. La rehidratación permite que las enzimas y estructuras presentes en la semilla deshidratada, necesaria para el reinicio del metabolismo se reactiven.

En general, se requieren de varias horas antes de que el metabolismo alcance su pleno rendimiento. Durante ese periodo se observa la degradación y reemplazo de componentes

dañados. En forma simultánea, se observa la síntesis de ADN para aquel que hubiese sido dañado durante la fase de maduración y deshidratación, y la síntesis de ADN mitocondrial.

- **FASE II: Activación metabólica**

Esta fase se caracteriza por un cese en la absorción de agua y una actividad respiratoria más reducida. Predomina el ciclo de las pentosas fosfato. Se ha visto que sustancias inhibitorias de la respiración (KCN, NaN_3 y Na_2S) facilitan la germinación de muchas semillas, probablemente estimulando este ciclo. Esta activación puede ser debida también al hecho de que, durante la fase de imbibición, las estructuras externas que rodean a la semilla, así como la densa estructura interna que rodea al embrión, restringen la difusión del oxígeno gaseoso, lo que produce una deficiencia de este elemento. Esto resulta en una mayor producción de piruvato de la que puede ser utilizada por el ciclo de Krebs y la cadena transportadora de electrones, reorientando el metabolismo hacia el ciclo de las pentosas fosfato (Herrera et. al., 2006).

Durante esta fase ocurre la síntesis a partir de las reservas disponibles, de nuevas estructuras y compuestos necesarios para las fases siguientes del desarrollo. En ese sentido, la germinación *sensu stricto* es principalmente anabólica y por lo tanto endergónica, consumiendo la energía disponible.

Previo a la aparición de la radícula, se producen cambios transcripcionales en la elongación y división celular. Dentro de los genes implicados en la elongación celular, algunos son activados por las giberelinas tales como:

- Acuaporinas, proteínas de las membranas implicadas en la absorción de agua.
- Xiloglucano endotransglucosilasa endotransferasa (XTH), que mediante la hidrólisis de los componentes de la pared celular afloja su trama.
- Expansinas, que rompen los enlaces hidrogeno de las paredes celulares.
- Pectina metilesterasa (PME), que modifica la pectina de las paredes celulares.

- **FASE III: Crecimiento de la radícula**

Con la penetración de las envolturas de semilla por parte de la radícula, se marca el final del proceso de germinación y el inicio del crecimiento de la plántula. Para que emerja la radícula, esta debe atravesar varias barreras internas, principalmente la testa y el endosperma. En el caso de semillas imbibidas, el potencial de presión del embrión presenta valores relativamente negativos (-1 a -2 MPa), por lo que el potencial hídrico en sí mismo rara vez

constituye un factor limitante para la germinación. En general, en una semilla entera, son los tejidos externos al embrión los que contienen la presión hidráulica ejercida por el embrión, limitando su absorción de agua y su expansión.

2.6.2 Tipos de germinación

Los cambios fisiológicos y metabólicos que se producen en las semillas, no latentes, después de la imbibición de agua, tienen como finalidad el desarrollo de la plántula. El proceso comienza por la radícula, que es el primer órgano que emerge a través de las cubiertas. Sin embargo, en otras semillas el crecimiento comienza por el hipocótilo.

Las semillas, atendiendo a la posición de los cotiledones respecto a la superficie del sustrato, pueden diferenciarse en la forma de germinar. Así, podemos distinguir dos tipos diferentes de germinación:

a. Germinación hipogea

En la mayoría de las especies, los cotiledones permanecen sobre o bajo el suelo. El punto de crecimiento (epicótilo) que está sobre los cotiledones comienza a crecer rápidamente formando un brote que termina en hojas rudimentarias (plúmula). La plúmula se dobla hacia atrás mientras que el brote sale del suelo, pero eventualmente se vuelve hacia la luz y forma las primeras hojas de la plántula (Fig. N° 09). Durante este período, los nutrientes de los cotiledones son absorbidos hasta que estos se secan. Luego, la plántula se nutre por sí sola mediante la raíz y las hojas verdes con capacidad de fotosíntesis (Jara, 1996).

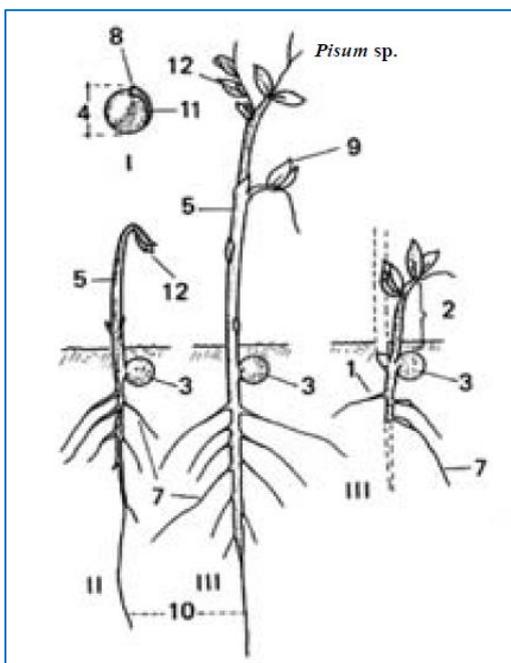


Figura 9: Germinación hipogea en *Pisum sp.*

1-Raíces adventicias; 2 - Yema axilar; 3 - Cotiledón; 4 - Embrión; 5 - Epicótilo; 6 -Hipocotilo; 7 - Raíces laterales; 8 - Plúmula; 9 - Hoja primaria; 10 - Raíz primaria; 11 - Radícula; 12 - Yema apical.

Fuente: (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

b. Germinación epigea

En otras especies, el hipocótilo comienza a crecer rápidamente una vez que la radícula está suficientemente desarrollada. Esto generalmente hace que brote un arco fuera del suelo. El hipocótilo se hace más fuerte y los cotiledones se expanden, se vuelven verdes y comienzan a funcionar como hojas. Durante este tiempo, la cubierta de la semilla se cae. Poco después el epicótilo comienza a crecer y la plúmula se desarrollará para producir las primeras hojas verdaderas (Fig. N°10). Si la semilla tiene un endosperma, este es absorbido por los cotiledones durante el crecimiento inicial (Jara, 1996).

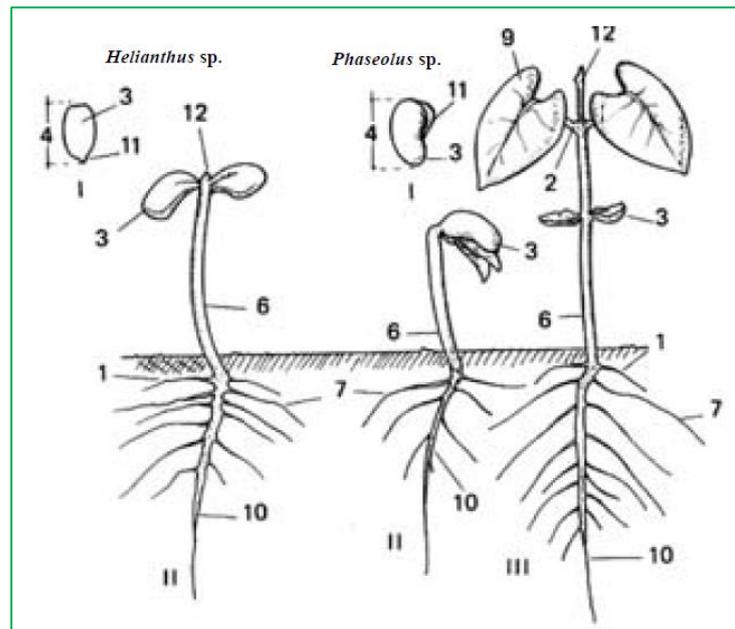


Figura 10: Germinación epigea en *Helianthus sp* y *Phaseolus*.

1-Raíces adventicias; 2 - Yema axilar; 3 - Cotiledón; 4 - Embriones; 5 - Epicótilo;
6 -Hipocotilo; 7 - Raíces laterales; 8 - Plúmula; 9 - Hoja primaria;
10 - Raíz primaria; 11 - Radícula; 12 – Yema apical.

Fuente: (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

2.6.3 Estructuras esenciales de las plántulas

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

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

a. Dicotiledóneas.

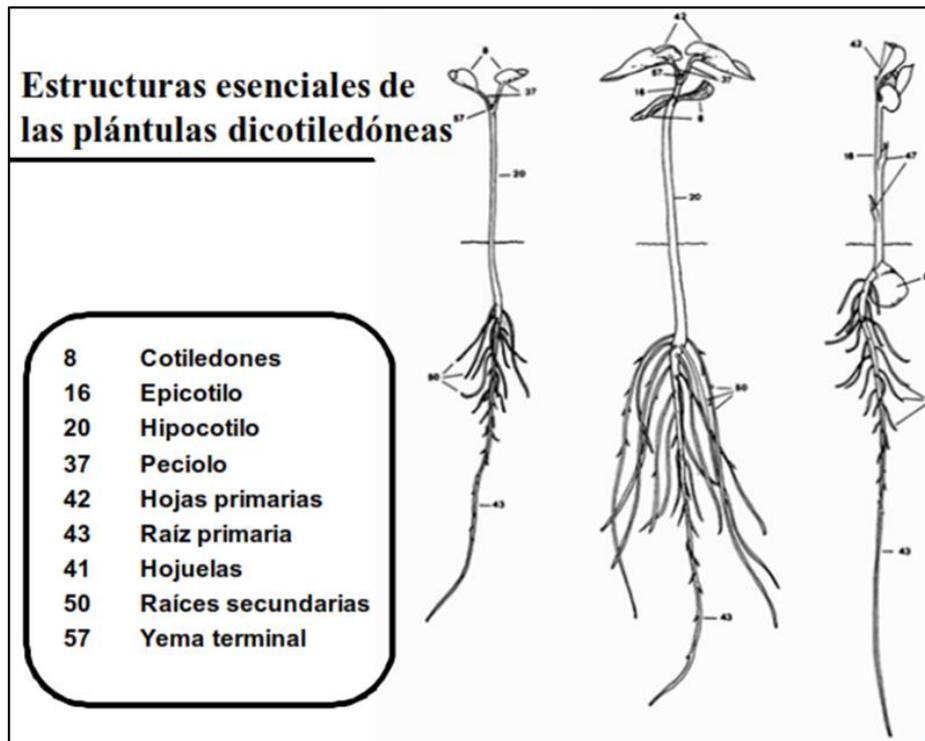


Figura 11: Estructuras esenciales de una plántula de dicotiledónea

Fuente: (Bekendam y Grob, 1980)

b. Monocotiledóneas.

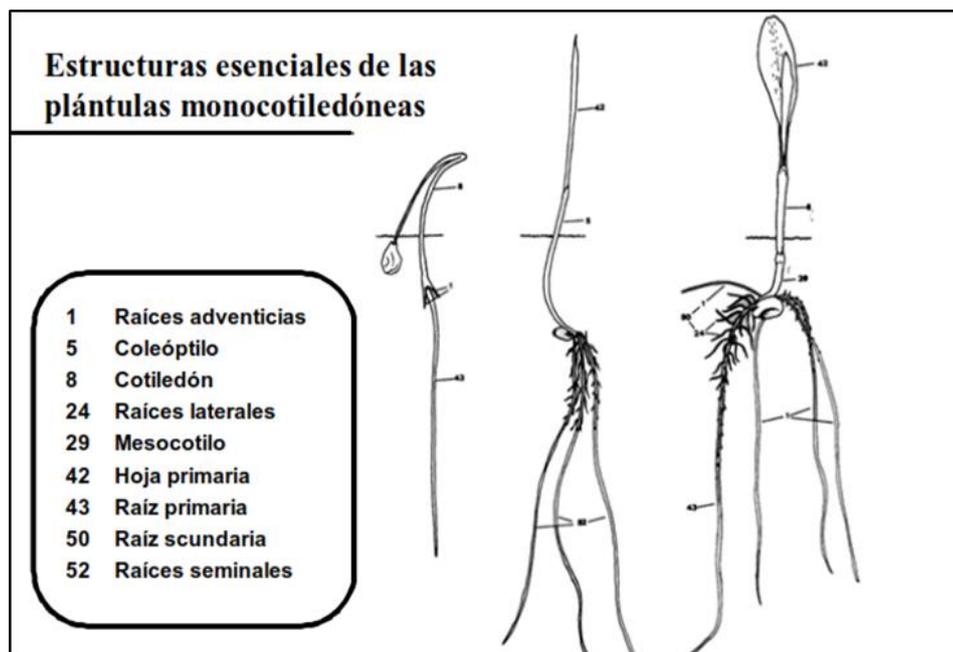


Figura 12: Estructuras esenciales de una plántula de monocotiledónea

Fuentes: (Bekendam y Grob, 1980)

2.6.4 Efectos del pericarpio, la temperatura y la interacción de ambas en la germinación de semillas de asteraceae.

- **Efectos del pericarpio:**

- **Permeabilidad al agua:** El pericarpio regula la entrada de agua a la semilla, un factor esencial para la imbibición e inicio de la germinación. Un pericarpio impermeable puede retardar o incluso impedir la germinación, mientras que uno permeable permite la absorción adecuada de agua.
- **Dormancia:** Algunos pericarpios contienen compuestos químicos que inducen o mantienen la dormancia de la semilla, impidiendo su germinación hasta que se cumplan ciertas condiciones ambientales. La escarificación física o química del pericarpio puede romper esta dormancia y permitir la germinación.
- **Protección:** El pericarpio protege la semilla contra patógenos, herbívoros y condiciones ambientales adversas como la desecación y las temperaturas extremas.

- **Efectos de la temperatura:**

- **Velocidad de germinación:** La temperatura afecta la velocidad a la que se producen los procesos bioquímicos y fisiológicos durante la germinación. En general, las semillas de Asteraceae germinan más rápidamente a temperaturas dentro de un rango óptimo, que varía según la especie. Temperaturas demasiado bajas o altas pueden retardar o incluso impedir la germinación.
- **Viabilidad de la semilla:** La exposición a temperaturas extremas durante un período prolongado puede dañar el embrión o los tejidos de la semilla, reduciendo su viabilidad y capacidad para germinar.
- **Dormancia:** La temperatura puede influir en la dormancia de la semilla, con algunas especies que requieren períodos de frío o calor para romper la dormancia y permitir la germinación.

- **Interacción entre pericarpio y temperatura:**

- **Pericarpios impermeables:** En semillas con pericarpios impermeables, la temperatura juega un papel crucial en la regulación de la imbibición. Temperaturas más altas pueden aumentar la permeabilidad del pericarpio, permitiendo la entrada de agua y el inicio de la germinación.

- **Dormancia:** La interacción entre el pericarpio y la temperatura puede afectar la dormancia de la semilla. Por ejemplo, algunas especies requieren una combinación de frío y escarificación para romper la dormancia impuesta por el pericarpio.

Jiménez Vásquez, A. M et al. Longevidad, viabilidad y germinación de semillas de cuatro especies de Asteraceae consideradas malezas-ruderales con valor etnobotánico. *Bot. sci* [online].2021 vol.99,n.2,pp.279-290.

2.6.5 Descripción general de las plántulas del género *cynara*

Según AOSA (2005) las plántulas del género *Cynara* son dicotiledóneas con germinación epigea. El tejido de reserva está formado por los cotiledones que se expanden y se vuelven como hojas delgadas y fotosintéticas. El eje del brote consiste en un hipocótilo elongado que lleva los cotiledones por encima de la superficie del suelo. El epicótilo usualmente no aparece ni se desarrolla dentro del periodo del ensayo. El sistema radicular tiene una larga raíz primaria con raíces secundarias usualmente que desarrollan dentro del periodo del ensayo.

2.6.6 Descripción de plántulas anormales del género *cynara*

Según el Handbook on Seedling Evaluation, se describen plántulas anormales en referencia a plantas incluidas en el Grupo: A.2.1.1.1 (plantas dicotiledóneas con germinación epígea y sin elongación de epicótilo) **en** donde se considera como géneros representativos a *Helianthus* y *Cynara* (ISTA, 2009).

Plántulas anormales:

- **Sistema radicular:** raíz primaria defectuosa.
 - Raquítica o mazuda.
 - Atrofiada o ausente.
 - Rota.
 - Hendida desde el extremo.
 - Con constricción.
 - Ahilada.
 - Atrapada en la cubierta seminal.
 - Con geotropismo negativo.
 - Vítrea.
 - Podrida como resultado de una infección primaria.

Nota:

Si la raíz primaria es defectuosa, la plántula se clasifica como anormal, aunque se hayan desarrollado raíces secundarias.

- **Sistema apical:** hipocótilo defectuoso.
 - Corto y grueso o ausente.
 - Agrietado profundamente o roto.
 - Con hendidura longitudinal.
 - Con constricción.
 - Curvado o formando un lazo.
 - Estrechamente retorcido o formando una espiral.
 - Ahilado.
 - Vítreo.
 - Podrido como resultado de una infección primaria.

- **Cotiledones** defectuosos en una extensión tal que más del 50 por ciento del tejido original no funciona normalmente, por ejemplo:
 - Hinchados y ondulados o con deformaciones de cualquier otro tipo.
 - Dañados.
 - Separados o ausentes.
 - Decolorados o necróticos.
 - Vítreos.
 - Podridos como resultado de una infección primaria.
 - Yema terminal o tejidos próximos defectuosos.

- **Plántula:** una o varias de las estructuras esenciales anormales como han quedado descritas, o con el desarrollo normal impedido a causa de que la plántula, considerada como un todo es defectuosa.
 - Deformada.
 - Fracturada.
 - Cotiledones emergidos de la raíz.
 - Dos fusionadas.
 - Amarilla o blanca.
 - Ahilado.
 - Vítreo.
 - Podrido, como resultado de una infección primaria.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREAS DE EXPERIMENTACIÓN

Los ensayos se realizaron en la Universidad Nacional Agraria la Molina, ubicada en el distrito de La Molina, provincia de Lima, región Lima, Perú, coordenadas **12°04'55"S 76°56'53"O** a 240 msnm aproximadamente.

El estudio comprendió dos etapas, la primera se realizó en el Laboratorio de Taxonomía y Anatomía Vegetal del Departamento Académico de Biología de la Facultad de Ciencias y en este se hicieron los estudios de morfología y estructura interna de la semilla. La segunda etapa, se realizó en el Laboratorio de Semillas del Departamento Académico de Fitotecnia de la Facultad de Agronomía y aquí se realizaron los ensayos de viabilidad y germinación.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Tabla 1: Relación de materiales y equipos para los ensayos

Materiales	Equipos
2000 semillas de alcachofa	Estufa
Cloruro 2,3,5 trifenil tetrazolio al 0.5%	Germinador
Lugol	Estereoscopio
Safranina	Cámara digital
Placas Petri	
Papel toalla	
Pinzas	
Hoja de afeitar	
Etiquetas	
Envases de plástico	
Picetas	
Agua destilada	
Beakers	

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Distribución de las semillas

El material biológico utilizado fue semillas de *Cynara scolymus* L. de la variedad Lorca (Ramiro Arendo S.A., lote 0232476). El tamaño de la muestra de trabajo para pureza según ISTA (2009) y Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (2009) fue de 90g (Anexo N° 1 y 2).

Las semillas fueron separadas de la siguiente manera: 100 semillas para la etapa de descripción morfológica y estructura interna, 100 semillas para la descripción del proceso de germinación, 320 para determinar el pretratamiento de la semilla previo a la tinción, 400 para establecer la duración de la inmersión de la semilla en el tetrazolio y 400 para el ensayo de germinación.

3.3.2 Estudio morfológico

En esta etapa se llevó a cabo la descripción morfológica y de la estructura interna de la semilla de alcachofa. En el estudio de la estructura interna de la semilla se realizaron los siguientes pasos:

- Se remojaron en agua durante 24 y 48 horas dos muestras de 25 frutos (cipselas) enteros. Al término de los tiempos mencionados, cada muestra fue hervida por veinte minutos teniendo como objetivo disminuir la dureza presentada por los tejidos externos de las semillas.
- De la misma manera se remojaron dos muestras más de 25 frutos (cipselas) durante 24 y 48 horas, pero sin someterlas al calor (temperatura ambiente).
- Se realizaron varios cortes longitudinales y transversales en el fruto, tratando de ubicar la posición del embrión, su forma y partes. Asimismo, se observaron el endospermo y otras estructuras externas de la semilla. Dicha evaluación se hizo con la ayuda de un estereoscopio y de una navaja (Fig. N° 13).
- Una vez determinada la conformación interna de la semilla de alcachofa (*Cynara scolymus* L.), se observó el embrión y con ayuda del lugol se pudo determinar su ubicación y diferenciar otras partes como el endospermo.
- Para la caracterización morfológica se tomaron 100 semillas, con el fin de determinar el tamaño. Las semillas fueron medidas con papel milimetrado, tomándose el largo, ancho y espesor. El largo de las semillas (eje vertical) fue medido desde polo radicular o micropilar hasta el lado o polo calazal. El ancho (eje horizontal) considera el ancho

cotiledonal posteriormente las semillas fueron cortadas longitudinalmente para extraer el embrión y tomar las medidas respectivas, expresadas en milímetros.

- Posteriormente se colocaron en el germinador 100 semillas, realizando observaciones periódicas durante 21 días, extrayendo las más representativas y procediendo a describir el proceso de germinación.



Figura 13: Cortes en cipselas de *Cynara*.

Recuadro rojo, frutos cortados transversalmente.
Recuadro amarillo, frutos cortados longitudinalmente.
Separación del pericarpio de la semilla.

3.3.3 Ensayo de germinación

Se utilizaron las normas ISTA (1993 y 2016) y las reglas del Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (2009) como referencia para el ensayo de germinación de *Cynara scolymus* L. (Anexos N° 4 y 5).

- Se tomaron al azar 400 semillas.
- Luego, se dividieron en 4 repeticiones de 100 semillas cada una.
- Cada repetición se colocó con una adecuada separación sobre papel toalla totalmente húmeda.
- Finalmente, se enrolló cada papel toalla húmedo con las semillas y los cuatro rollos se colocaron en un envase de plástico con tapa, y este a su vez se puso dentro de la cámara de germinación (Fig. N° 14 y 15).

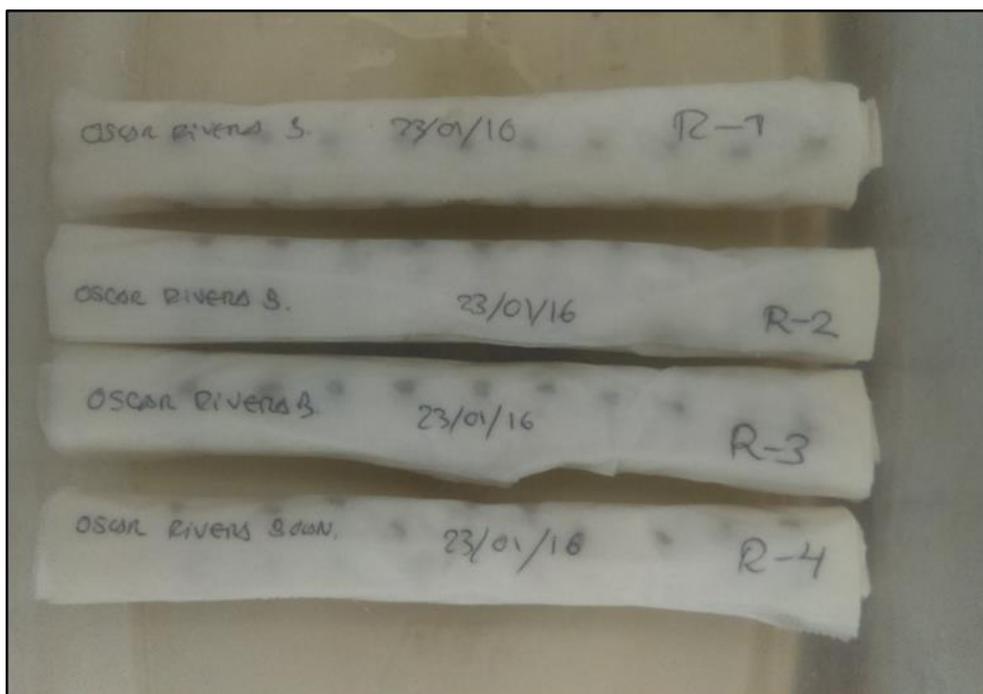


Figura 14: Semillas en papel toalla enrollados y humedecidos.



Figura 15: Recipiente con semillas dentro de cámara de germinación.

- El sustrato de papel toalla se mantuvo húmedo durante los 28 días que duró el ensayo (ISTA ,1993). La temperatura dentro de la cabina fue alterna: 20°C alterna durante 18 horas y 30°C durante seis horas, así como también se reguló automáticamente la iluminación artificial dentro de la cabina las 24 horas, para un mejor desarrollo de las plántulas, facilitando la evaluación (ISTA,1993).

- Se realizó una primera evaluación a los siete días para permitir la detección de plántulas normales, tal como lo establece ISTA (1993, 2009,2016) y las reglas del Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (2009). Al finalizar la prueba se llevó a cabo la segunda evaluación, donde se encontraron plántulas normales, anormales, semillas frescas, duras y muertas.

3.3.4 Ensayo de viabilidad

Según la bibliografía consultada, se reporta escasa información específica sobre pruebas de viabilidad en semillas de alcachofa (*Cynara scolymus* L.); sin embargo, se reportan mayores alcances para el género *Cynara*.

Delouche et. al. (1971) mencionan en su libro “Prueba de Viabilidad de la Semilla con Tetrazol”, algunos aspectos del pretratamiento referidos a semillas con características similares a *Cynara*:

- **Bisección:** Las semillas grandes de pastos, que varían en tamaño desde la semilla de pasto Bahía hasta la semilla de maíz, se seccionan longitudinalmente, a la mitad, a través del embrión. El corte debe hacerse con movimiento de trazo o deslizamiento y no de presión para evitar daño y asegurar limpieza en la operación.
- **Remoción de la corteza:** En algunos casos es necesario remover la cubierta de la semilla y también otras membranas para permitir la absorción del tetrazol. Comúnmente es necesario remojar para reblandecer suficientemente la cubierta y poder quitarla. Después de remojarla, la cubierta se desprende cuidadosamente con los dedos o con fórceps colocando la semilla descortezada en la solución de tetrazol.
- **Coloración:** La variación de la intensidad del color es mayor entre las semillas que se han coloreado directamente a través del tegumento y particularmente entre los tipos de semillas que exhiben “cascara dura “. Las semillas con la cubierta rota toman el color muy rápidamente; las fácilmente permeables pero intactas lo toman más lentamente y las que tienen “cascara dura “residual son más lentas aún. La uniformidad de la coloración puede aumentar sumergiendo las semillas durante varias horas en agua, antes de ponerlas en la solución de tetrazol.

La intensidad del color se ve afectado por muchos factores. La intensidad, la profundidad y la rapidez de coloración en semillas que se tiñen a través de la cubierta o después de

quitar esta (pero no después de seccionar), están íntimamente ligadas a la calidad de la semilla.

Asimismo, existen parámetros (Anexo N° 5) en estudios brasileros sugeridos para la realización del test en *Cynara cardunculus* (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009). Por otro lado, AOSA (2000) establece también métodos, pero para otras especies de Asteraceae (Anexo N° 6); así como ISTA (2009) propone un procedimiento de corte en semillas de Asteraceae (Anexo N° 6).

a. Ensayo preliminar

La humidificación y la preparación de la semilla fueron evaluados inicialmente para elegir la mejor combinación que facilite la exposición de los tejidos previa a la tinción.

Los factores bajo estudio fueron los siguientes:

- **Factor A: Sustrato para la humidificación**, considerando dos niveles.
 - **a1: Agua** (semilla remojada en agua destilada)
 - **a2: Entre papel** (semilla colocada entre papel humedecido con agua destilada)

- **Factor B: Estado del pericarpio**, considerando dos niveles.
 - **b1: Entero** (semilla entera, sin manipulación mecánica)
 - **b2: Con ligera presión** (se aplicó una ligera presión mecánica a la semilla).

- **Factor C: Temperatura de la humidificación**, considerando dos niveles.
 - **c1: Temperatura ambiente** (semilla expuesta a T° ambiente)
 - **c2: 20° C** (semilla puesta en estufa a 20 °C)

- **Factor D: Tiempo de la humidificación**, considerando dos niveles.
 - **d1: 12 horas, d2: 24 horas, d3: 36 horas, d4: 48 horas, d5: 60 horas, d6: 72 horas.**

En la tabla N°02 se observaron los cuatro factores con sus respectivos niveles considerados en esta etapa preliminar.

Tabla 2: Tratamientos del ensayo preliminar

COMBINACIONES FACTORIALES					
		a1		a2	
		b1	b2	b1	b2
c1	d1	T1 a1b1c1d1	T2 a1b2c1d1	T3 a2b1c1d1	T4 a2b2c1d1
	d2	T5 a1b1c1d2	T6 a1b2c1d2	T7 a2b1c1d2	T8 a2b2c1d2
	d3	T9 1b1c1d3	T10 a1b2c1d3	T11 a2b1c1d3	T12 a2b2c1d3
	d4	T13 1b1c1d4	T14 a1b2c1d4	T15 a2b1c1d4	T16 a2b2c1d4
	d5	T17 1b1c1d5	T18 a1b2c1d5	T19 a2b1c1d5	T20 a2b2c1d5
	d6	T21 1b1c1d6	T22 a1b2c1d6	T23 a2b1c1d6	T24 a2b2c1d6
	d1	T25 a1b1c1d1	T26 a1b2c1d1	T27 a2b1c1d1	T28 a2b2c1d1
	d2	T29 a1b1c1d2	T30 a1b2c1d2	T31 a2b1c1d2	T32 a2b2c1d2
	d3	T33 1b1c1d3	T34 a1b2c1d3	T35 a2b1c1d3	T36 a2b2c1d3
	d4	T37 1b1c1d4	T38 a1b2c1d4	T39 a2b1c1d4	T40 a2b2c1d4
	d5	T41 1b1c1d5	T42 a1b2c1d5	T43 a2b1c1d5	T44 a2b2c1d5
	d6	T45 1b1c1d6	T46 a1b2c1d6	T47 a2b1c1d6	T48 a2b2c1d6

En dicho ensayo se evaluaron 320 semillas tomadas al azar y distribuidas en 4 repeticiones de 10 semillas cada una. El análisis fue realizado cada 12 horas durante 4 días sobre las mismas semillas. (Fig. N°16 y 17).

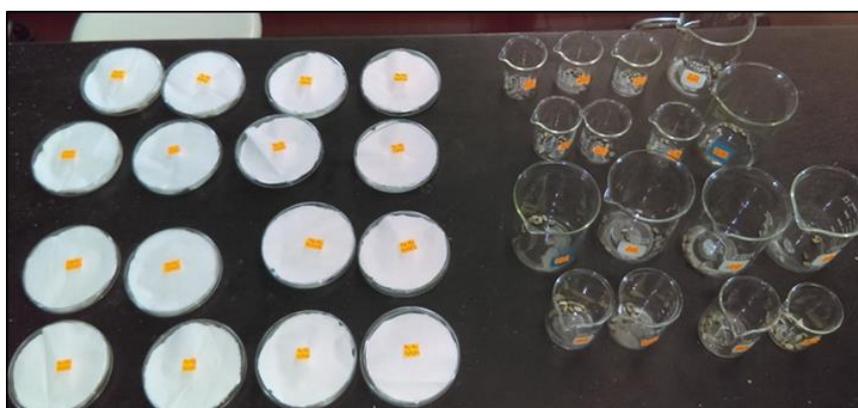


Figura 16: Tratamientos del ensayo preliminar a temperatura ambiente.



Figura 17: Tratamiento del ensayo preliminar a 20° C.

b. Ensayo final

El pretratamiento para el ensayo final consistió en remojar 720 semillas en agua a 20 °C por 72 horas. Pero en la prueba se tomaron tan solo 400 semillas que fueron distribuidas en 10 tratamientos con cuatro repeticiones y 10 semillas por repetición.

A continuación, se detalla la estructura de los tratamientos de la Tabla N°03:

- **Factor C: Cubierta protectora**
 - **c1: Pericarpio removido** (con ayuda de un bisturí o un estilete)
 - **c2: Pericarpio sin remover**

- **Factor T: Tiempo de inmersión en el tetrazolio.**
 - **t1: 2 horas**
 - **t2: 6 horas**
 - **t3: 10 horas**
 - **t4: 14 horas**
 - **t5: 18 horas**

Tabla 3: Tratamientos del ensayo final.

	c1	c2
t1	T1	T2
	t1c1	t1c2
t2	T3	T3
	t2c1	t2c2
t3	T5	T6
	t3c1	t3c2
t4	T7	T8
	t4c1	t4c2
t5	T9	T10
	t5c1	t5c2

Luego, las semillas con y sin pericarpio estuvieron sumergidas en la solución de tetrazolio al 0.5 por ciento (Fig. N° 18) y colocadas en la estufa a 30 °C (Fig. N°19). Después de transcurridos cada uno de los cinco tiempos de inmersión, las semillas fueron lavadas y conservadas en agua para realizar la evaluación inmediatamente y una sola vez.

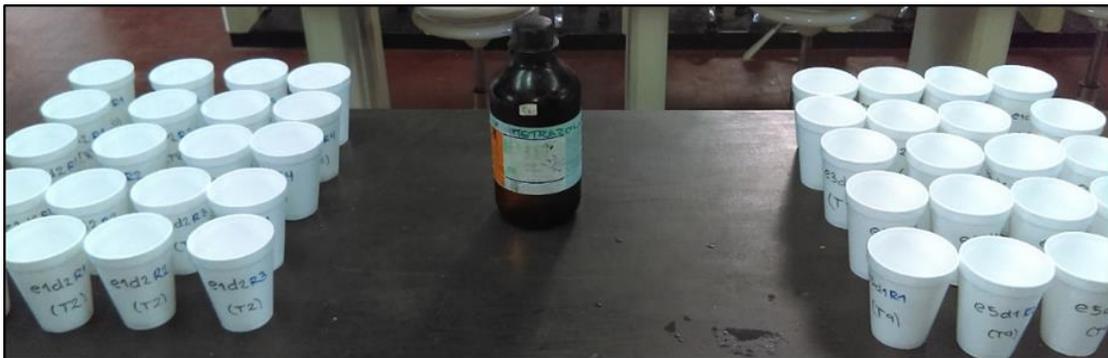


Figura 18: Preparación de los tratamientos con tetrazolio



Figura 19: Tratamientos en la estufa 30C°

Si el pericarpio es la cáscara del aquenio, al poner el aquenio en tetrazol se busca evidenciar si después del remojo era permeable al reactante.

La evaluación de la tinción se realizó utilizando el patrón para semillas de girasol (*Helianthus annuus*) (Fig. N° 20), por ser más detallado que el patrón de tinción (Anexo N°6) propuesto por AOSA (2000).

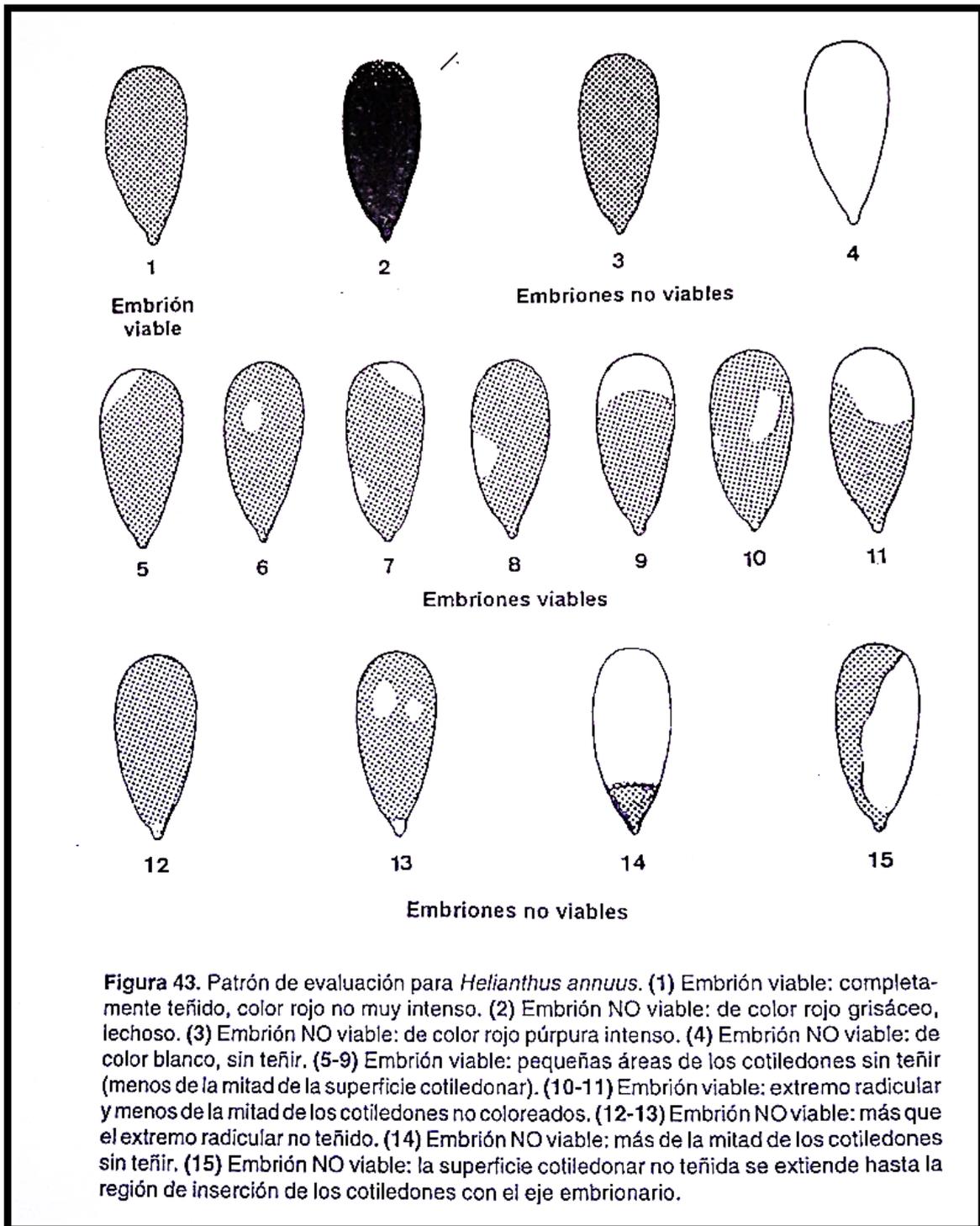


Figura 43. Patrón de evaluación para *Helianthus annuus*. (1) Embrión viable: completamente teñido, color rojo no muy intenso. (2) Embrión NO viable: de color rojo grisáceo, lechoso. (3) Embrión NO viable: de color rojo púrpura intenso. (4) Embrión NO viable: de color blanco, sin teñir. (5-9) Embrión viable: pequeñas áreas de los cotiledones sin teñir (menos de la mitad de la superficie cotiledonar). (10-11) Embrión viable: extremo radicular y menos de la mitad de los cotiledones no coloreados. (12-13) Embrión NO viable: más que el extremo radicular no teñido. (14) Embrión NO viable: más de la mitad de los cotiledones sin teñir. (15) Embrión NO viable: la superficie cotiledonar no teñida se extiende hasta la región de inserción de los cotiledones con el eje embrionario.

Figura 20: Patrón de tinción para *Helianthus annuus* (Peretti, 1994)

3.3.5 Diseño experimental

a. Ensayo preliminar

Los datos fueron analizados en un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 2x2x2x6, con el respectivo análisis de varianza (ANVA). La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey al 0.05. Los datos fueron procesados con el programa estadístico R versión 3.3.1

El modelo estadístico para este diseño se presenta a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (AD)_{il} + (BC)_{jk} + (BD)_{jl} + (CD)_{kl} + (ABC)_{ijk} + (ABD)_{ijk} + (ACD)_{ikl} + (BCD)_{kjl} + (ABCD)_{ijkl} + \varepsilon_{ijkl}.$$

Donde:

- Y_{ij} : Parámetros estudiados
- μ : Media general del ensayo
- A_i, B_j, C_k : Efecto debido a los factores principales A, B, C y D
- $(AB)_{ij}, (AC)_{ik}, (AD)_{il}, (BC)_{jk}, (BD)_{jl}, (CD)_{kl}, (ABC)_{ijk}, (ABD)_{ijk}, (ACD)_{ikl}, (BCD)_{kjl}, (ABCD)_{ijkl}$: Efecto debido a la interacción de los factores
- ε_{ijkl} : Error experimental

b. Ensayo final

Los datos fueron analizados en un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 2x5, con el respectivo análisis de varianza (ANVA). La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey al 0.05. La prueba estadística se hizo tanto para semillas viables como para no viables. Los datos fueron procesados con el programa estadístico R versión 3.3.1

El modelo estadístico para este diseño se presenta a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + T_j + (PT)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ij} : Parámetros estudiados
- μ : Media general del ensayo
- P_i, T_j : Efecto debido a los factores principales P y T
- $(PT)_{ij}$: Efecto debido a la interacción de los factores
- ε_{ijk} : Error experimental

3.3.6 Parámetros evaluados

a. Ensayo de Germinación

Se evaluaron los porcentajes de plántulas normales y anormales, semillas muertas, frescas y duras.

b. Ensayo de viabilidad

Se determinaron los porcentajes de semillas viables y no viables considerándolas como semillas viables a aquellas con el embrión totalmente teñido o con mínimas zonas sin teñir, y semillas no viables a aquellas con zonas intactas o con mínimas zonas teñidas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Las frutos o aquenios de *Cynara scolymus* L. presentan forma ovoide, ligeramente aplanado en su diámetro o eje horizontal. Se evaluaron en promedio 100 semillas, las cuales al ser medidas en papel milimetrado mostraron 8.68 mm de largo y 4.91 mm de ancho, en promedio. (Fig. N° 21).



Figura 21: Frutos enteros de *Cynara scolymus* L., medidas en papel milimetrado.

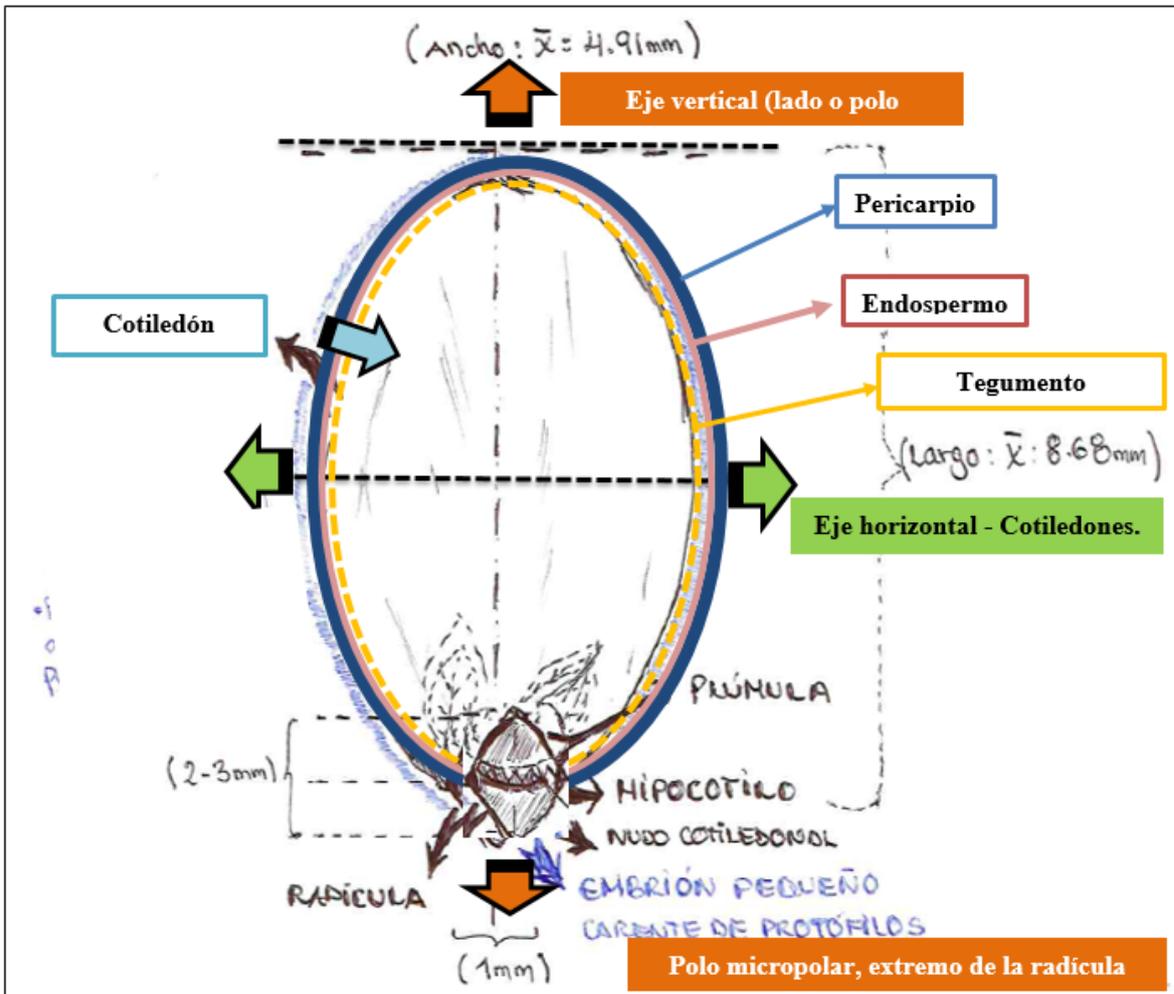


Figura 22: Vista de la sección longitudinal de frente de la semilla de alcachofa.

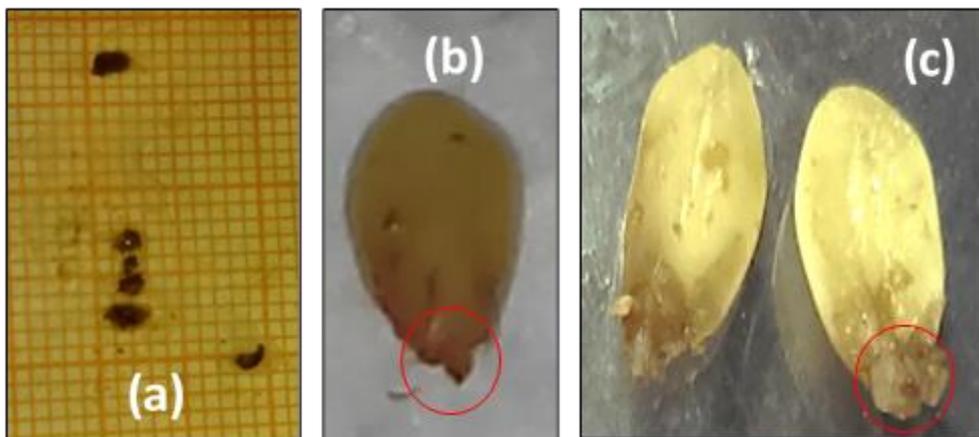


Figura 23: a) Embriones de semillas de alcachofa en lugol, medidos en papel milimetrado. b) y c) Ubicación del embrión dentro de la semilla con corte longitudinal (indicado en círculo rojo)

Luego se identificó el endospermo (material de reserva alimenticia que acompaña a las semillas endospermadas). El endospermo en *Cynara scolymus* se presenta como una ligera capa cerosa entre la semilla y el pericarpio, adherida a los cotiledones (De Francesco y González, 2000) (Fig. N° 22).

Finalmente, el embrión tuvo las siguientes medidas promedio: 2mm de plúmula, 2mm de radícula y 1mm de base (Fig. N°23 a, b y c). Por otro lado, en el embrión también se identificaron el hipocótilo y el nudo cotiledonal (Fig. N° 22).

Cabe mencionar que el tipo de inflorescencia de las Asteraceae (capítulo) es un factor que determina el proceso de cosecha, razón por la cual no todas las semillas maduran al mismo tiempo.

Una cabeza o capítulo, es un denso racimo terminal de flores sésiles. Este tipo de inflorescencia puede resultar mediante la agregación de las flores de una inflorescencia determinada o indeterminada. Es una cabeza indeterminada, las flores periféricas se abren primero, mientras que una cabeza determinada las flores centrales se abren primero. Una umbela es una inflorescencia en la que todas las flores tienen pedicelos de aproximadamente la misma longitud que surgen de una sola región en el vértice del eje de la inflorescencia. Las umbelas suelen ser indeterminadas, pero también puede ser determinadas (Judd, Campbell, Kellogg, Stevens, 1999).

Por tanto, la poca uniformidad u homogeneidad en la maduración de la semilla por las características propias del tipo de inflorescencia determinan también una variación para los tiempos de cosecha.

Judd. Campbell. Kellogg. Stevens (1999). Plant systematic, a phylogenetic approach), (p. 65)

4.2 PROCESO DE GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

De acuerdo con las fases de germinación planteadas por Evenari (1957) y Herrera et. al. (2006), la alcachofa ha iniciado la fase III antes del tercer día, marcando así el final de proceso de germinación y el inicio del crecimiento de la plántula (Fig. N° 24). Esto hace suponer que la primera fase se ha desarrollado probablemente en horas. La segunda fase ha dado lugar a la elongación y división celular, pero sin la emergencia de la radícula, esto es una germinación sensu stricto antes del tercer día.

A los 7 días fue posible observar la germinación epigea de la plántula de alcachofa (Fig. N° 24). Según AOSA (2005), las plántulas de *Cynara cardunculus* presentan casi todas las estructuras esenciales: raíz primaria, raíces secundarias, hipocótilo y cotiledones dentro del periodo de tiempo establecido para una prueba de germinación tal como se muestra en la Fig. N° 24 para *Cynara scolymus* L.

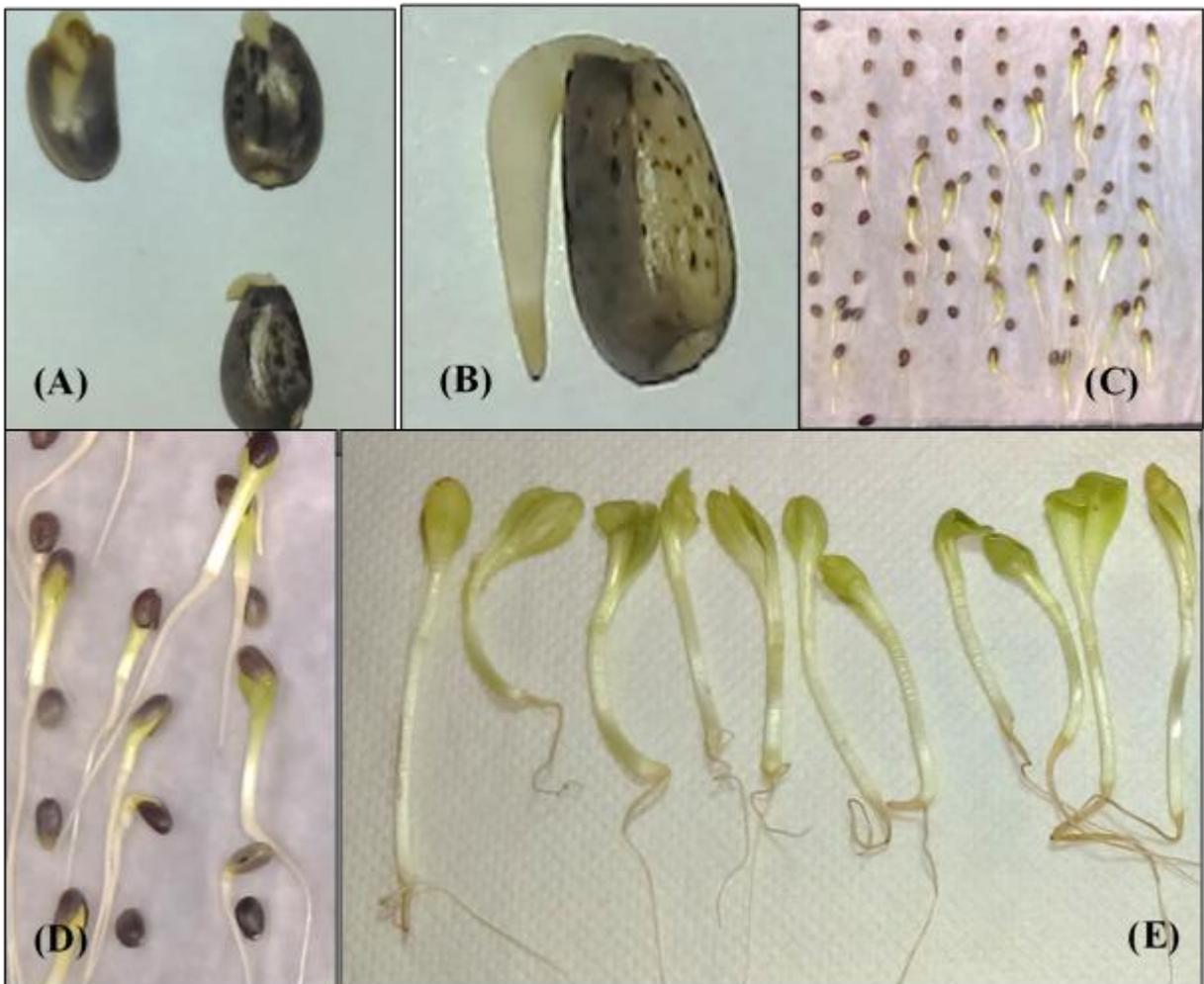


Figura 24: Proceso de germinación de *Cynara scolymus* L.

(A) Una vez ocurrida la imbibición en la semilla (absorción de agua), los tejidos presentan mayor facilidad de abscisión. Empieza a emerger la radícula.

(A) y (B): A los 3 días se inicia el crecimiento de la radícula y aparece el hipocótilo.

(C) y (D): A los 7 días continúa el crecimiento de la radícula, se desarrolla el hipocótilo y los cotiledones empiezan a perder las cubiertas.

(E): A los 21 días la raíz primaria se elonga y presenta raíces secundarias el hipocótilo continua su desarrollo y los cotiledones se expanden, se vuelven verdes y comienzan a funcionar como hojas.

4.3 ENSAYO DE GERMINACIÓN

En el ensayo se observaron y evaluaron 400 semillas distribuidas en 4 repeticiones de 100 semillas cada una. Asimismo, se identificaron plántulas normales y anormales, semillas duras, frescas y muertas (Fig. N° 25).

La evaluación de cada una de las categorías se basó en los criterios del Manual de Evaluación de Semillas del ISTA (Handbook on Seedling Evaluation). En dicho manual se hace referencia a las plantas incluidas en el Grupo: A.2.1.1.1 (plantas dicotiledóneas con germinación epígea y sin elongación de epicótilo) y en donde se consideran como géneros representativos a *Helianthus* y *Cynara* (ISTA, 2009).



Figura 25: Conteo de plántulas normales, anormales y semillas duras, frescas y muerta

En la evaluación general del ensayo de germinación (Tabla N°04) se pudo observar que el porcentaje de semillas frescas superaba el 5 por ciento, lo que significa que a través de una prueba de viabilidad se hubiera podido establecer cuántas de ese 8 por ciento pudieron ser potencialmente plántulas normales (ISTA, 1993). El 3 por ciento de semillas duras, en cambio indica que la alcachofa presenta cierto grado de dureza en su cubierta seminal, aunque esta característica no le impidió germinar pudiendo alcanzar hasta un 66 por ciento de plántulas normales.

Tabla 4: Evaluación general del ensayo de germinación

DESCRIPCIÓN	Repeticiones				Total	Porcentaje
	R1	R2	R3	R4		
Plántulas normales	67	66	70	62	265	66%
Plántulas anormales	13	13	12	9	47	12%
Semillas frescas	11	10	3	6	30	8%
Semillas duras	2	3	4	4	13	3%
Semillas muertas	7	8	11	19	45	11%
TOTAL	100	100	100	100	400	100%

Si se quisiera validar la prueba, en todas las categorías la diferencia entre las repeticiones (Fig. N° 26) no supera el rango máximo tolerado entre las cuatro réplicas de 100 semillas en una prueba de germinación (ISTA, 1993).

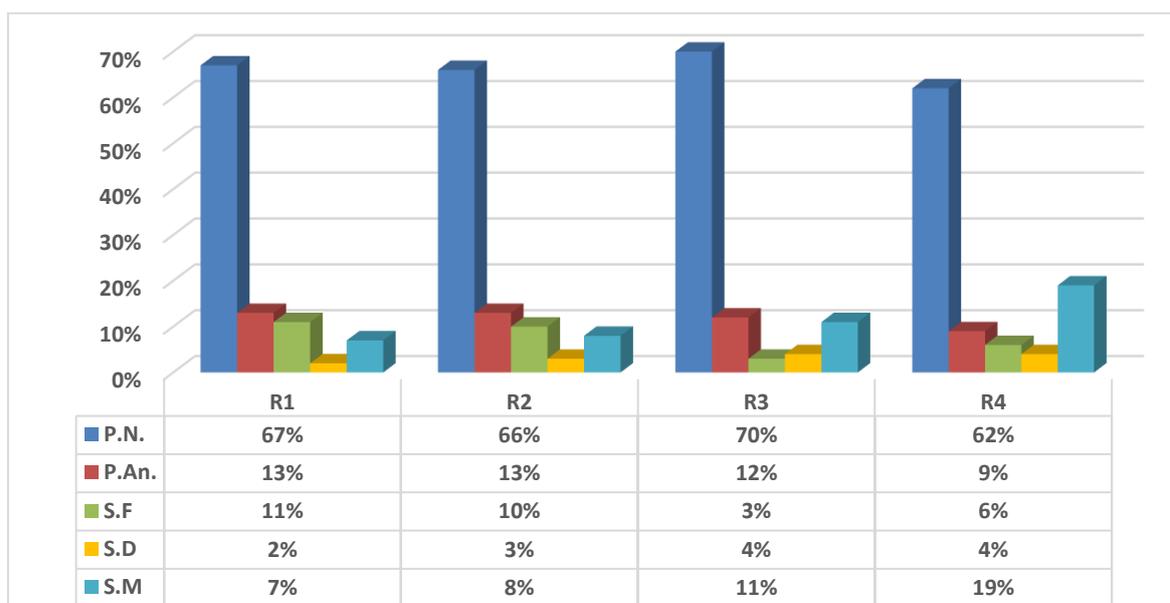


Figura 26: Porcentaje de plántulas y semillas por repetición.

Finalmente, asumiendo que todo el 8 por ciento de las semillas frescas hubieran sido potencialmente plántulas normales, el porcentaje de germinación de la muestra de alcachofa hubiera superado el 70 por ciento (Fig. N°27).

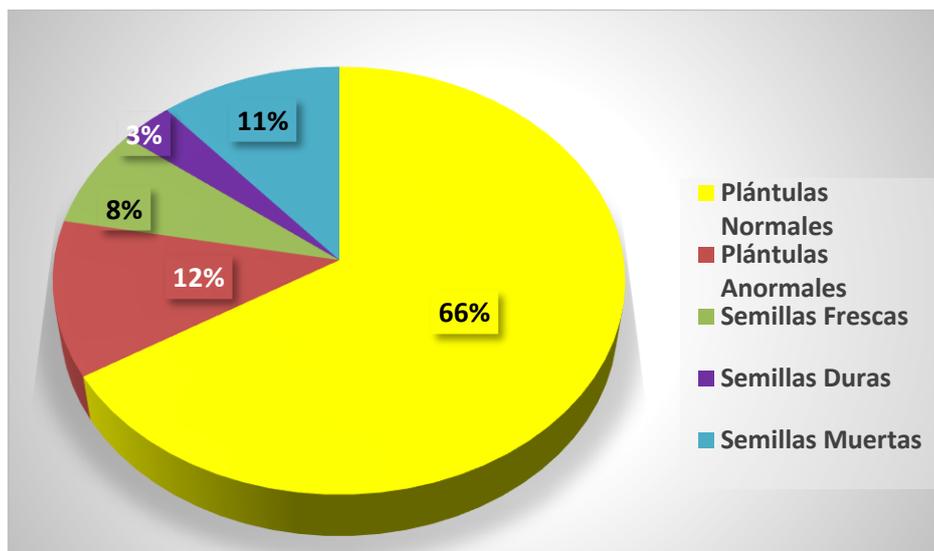


Figura 27: Porcentaje total de plántulas normales, anormales y semillas frescas, duras, muertas.

4.3.1 Plántulas normales

Las plántulas normales fueron en su mayoría intactas, es decir con todas sus estructuras esenciales completas y bien desarrolladas (ISTA, 2009). Algunas plántulas presentaron ligera presencia de zonas necróticas en la zona radicular y en los cotiledones, debido probablemente a falta de humedad durante el ensayo (Fig. N° 28).

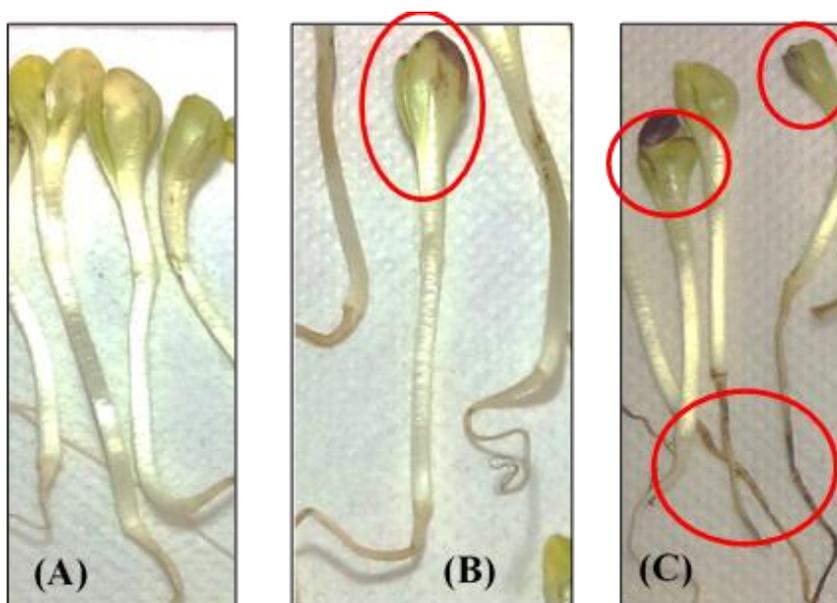


Figura 28: Plántulas normales observadas en la prueba de germinación.

(A) Plántulas normales totalmente sanas de *Cynara scolymus* L.
 (B y C) Plántulas normales con ligeras zonas necróticas en los cotiledones y raíz primaria.

4.3.2 Plántulas anormales

Las plántulas anormales que se observaron fueron en su mayoría plántulas deformes con raíz primaria atrofiada, podrida, mazuda y con geotropismo negativo (Fig. N° 29). Según Camacho (1994), los compuestos fenólicos y otros compuestos volátiles que se encuentran en la cubierta de las semillas inhiben la germinación, pero en caso de haber germinación se producen radículas cortas, deformes y necrosadas en la punta.



Figura 29: Plántulas anormales observadas en la prueba de germinación. raíz primaria atrofiada y geotropismo negativo.

4.3.3 Aquenios con semillas frescas

Las semillas frescas son aquellas, que no han germinado bajo las condiciones del ensayo de germinación, pero que permanecen sanas, firmes y tienen el potencial para desarrollarse en una plántula normal. Las semillas frescas pueden imbibir cuando se les proporciona las condiciones requeridas, pero el proceso de germinación está bloqueado (ISTA, 2009).

Según lo evaluado, en las semillas no germinadas, se observaron que todas estaban hinchadas por la absorción de agua, característica necesaria para clasificarlas como semillas frescas. Estas semillas no germinan, porque se encuentran en estado de latencia, posiblemente debido a la presencia de sustancias químicas inhibidoras, fotosensibilidad (Salisbury y Ross, 1994) o factores no adecuados que bloquean el proceso de germinación.

Como señalan Arostegui y Diaz (1992), cualquier condición de latencia que pueda inhibir la germinación debe superarse con la aplicación de tratamientos de pregerminación que sean necesarios (Fig. N° 30).

El porcentaje de semilla fresca encontrado fue de ocho por ciento. Según ISTA (2009), cuando se presenta un cinco por ciento o más de semillas frescas, su potencial de

germinación deberá determinarse por disección, tetrazolio o escisión del embrión. Las que se determinen que tienen potencial germinativo se registrarán como frescas. Las que se determinen que no tienen poder germinativo se registrarán como muertas.



Figura 30: Aquenios con Semillas frescas observadas en la prueba de germinación.

4.3.4 Semillas duras

Las semillas que permanecen duras al final del periodo de ensayo son aquellas que no han absorbido agua. La dureza es una forma de latencia. Estas semillas no pueden embeber agua bajo las condiciones establecida y permanecen duras, (ISTA, 2009).

En las muestras evaluadas se evidenció un ligero porcentaje de esta categoría de semillas. (Fig. N° 31).



Figura 31: (A), (B) Semillas duras observadas en la prueba de germinación.

4.3.5 Semillas muertas

Son aquellas semillas que al final del periodo del ensayo no están duras ni frescas, ni han producido ninguna estructura de la plántula. Estas semillas normalmente están blandas, decoloradas y frecuentemente enmohecidas (ISTA, 2009).

Las muestras evaluadas mostraban semillas blandas al ejercer cierta presión sobre ellas, así como la presencia de pudrición y moho superficial o sustancias mucilaginosas, halo negro alrededor de la superficie. Dichas características impidieron la germinación de la semilla en las condiciones adecuadas (Fig. N° 32).

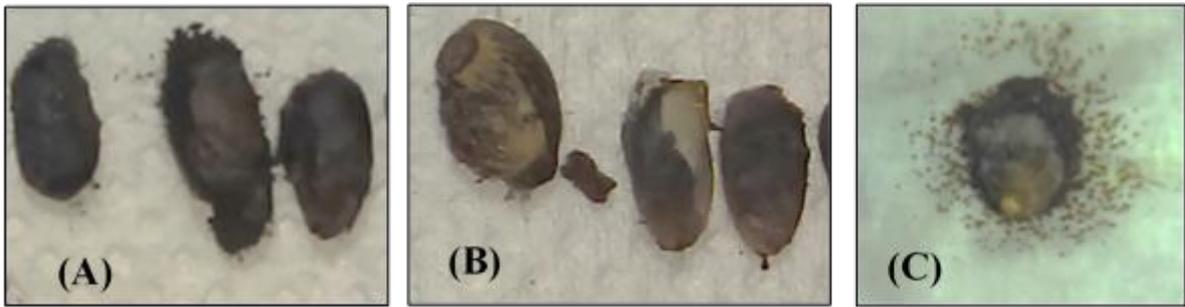


Figura 32: Semillas muertas observadas en la prueba de germinación.

(A y B), Semillas muertas, presencia de sustancia mucilaginosa, coloración oscura, olor a pudrición
(C), Semilla muerta con presencia de moho (halo negro alrededor de la superficie de la semilla),
a los 3 días de la instalación del ensayo.

Es importante añadir frente a estos resultados de las pruebas de germinación que las alcachofas híbridas no tienen bajos porcentajes de germinación, pero no se usan en la industria.

Esto se deba probablemente, al alto precio de la semilla híbrida como una limitante para su uso a nivel de pequeño productor y considerando que la actividad hortícola en el país está concentrada en dicho segmento de agricultores, una alta proporción de ellos no tiene acceso a este insumo tecnológico (INIA, 2005).

(Tierra Adentro- Hortalizas y flores)-2005. INIA Chile.

4.4 ENSAYO DE VIABILIDAD

En el ensayo preliminar, se buscó establecer el mejor tratamiento que permitiera obtener la mayor cantidad de semillas con el pericarpio removido. Según el análisis estadístico, estado del pericarpio y tiempo de humidificación resultó significativa, siendo las combinaciones: ligera presión mecánica sobre la semilla con 12 y 24 horas las que mostraron diferencias significativas. (Anexo N° 8 y N° 9).

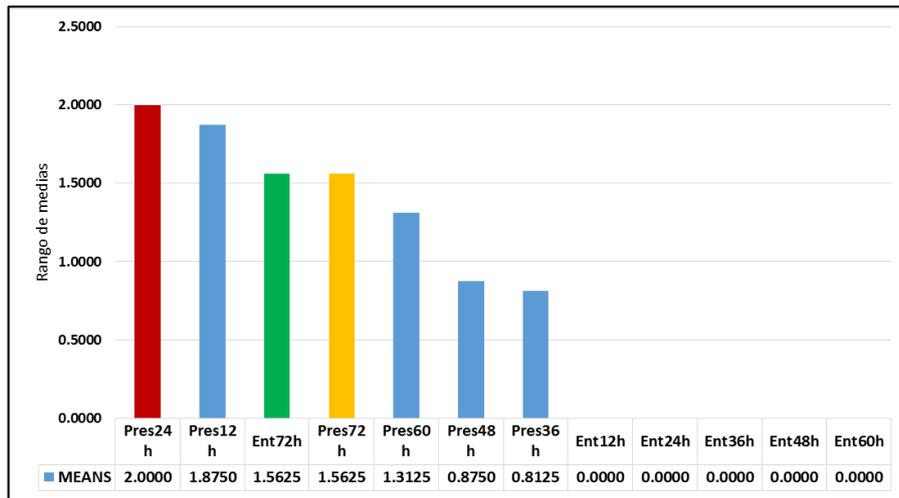


Figura 33: Tabla de medias - Interacción de las variables: Pericarpio vs. Horas de humedad

Sin embargo, el efecto de la acción mecánica ejercida sobre la semilla originó serios daños fitosanitarios (hongos, pudriciones); por lo que se tuvo que optar por la interacción: pericarpio entero por 72 horas, la que garantizó la integridad de la semilla (sin daños) y el un buen promedio de semillas con remoción del pericarpio:

En el ensayo de viabilidad propiamente dicho, los resultados se basaron en el número de semillas teñidas de color rojizo, debido a la reacción del tetrazolio al 0.5 por ciento con el tejido vivo de la semilla; considerándose como semillas viables a aquellas que estuvieron totalmente teñidas o con mínimas zonas sin teñir (Fig. N° 33); y las semillas no viables a aquellas que no reaccionaron con el tetrazolio y por lo tanto se mantuvieron intactas o con mínimas zonas teñidas a lo largo de la semilla (Fig. N° 34).



Figura 34: Semillas viables observadas en la prueba de tetrazolio.

A) Pericarpio removido, B) Pericarpio sin remover.



Figura 35: Semillas no viables observadas en la prueba de tetrazolio.

A) Pericarpio removido, B) Pericarpio sin remover.

De acuerdo a los patrones de tinción para semillas de *Helianthus annuus*, (Peretti, 1994) la semilla no viable encontrada en el ensayo fue aquella, donde solo el embrión presentó la tinción rojo fuerte (50 por ciento aprox.), seguido de cotiledones parcialmente pintados (30 por ciento aprox.) y tinciones muy oscuras parciales o totales (20 por ciento restante).

La mayor cantidad de semillas viables se presentó en los tratamientos donde el pericarpio estaba removido (sin cubierta). El número de semillas viables disminuía al pasar las horas de inmersión en el reactivo, predominando cada vez más las semillas no viables (tinciones rojo-oscuras, muy fuertes semejantes a quemaduras) (Figura N° 34)

En las semillas sin pericarpio removido (con la cubierta), se observó un gran porcentaje (95 por ciento) de semillas no viables. Sin embargo, al pasar las horas, algunas de ellas presentaron apertura de los extremos del pericarpio, propio de la imbibición de agua o hidratación (5 por ciento aprox.) permitiendo que el reactivo ingrese y tiña la semilla (Figura N° 34).

En un estudio realizado en la Universidad de Salta, Argentina, (Guilo et. al., 2015) titulado “Evaluación de la calidad de semillas de quinua (*Chenopodium quinua* Willd)”, el objetivo fue evaluar la calidad de las semillas de quinua producidas en Chicoana y Seclantás provincias de Salta a través de ensayos estándar de germinación y de tetrazolio.

En la prueba de tetrazolio se acondicionaron ocho repeticiones de 50 semillas de cada localidad, se evaluaron los factores de concentración de la solución (0.5 y uno por ciento), tiempo de exposición (tres y cinco horas) y su interacción, colocadas en estufa a 35 °C. Los resultados demostraron que los factores: tiempo de exposición y concentración de tetrazolio no tuvieron efecto sobre la viabilidad de las semillas. Sin embargo, la interacción de los

factores: concentración 0,5 por ciento durante cinco horas y concentración 1 por ciento durante tres horas registraron mayor viabilidad en promedio, es decir que a medida que aumentaba la concentración de la solución, menor debería ser el tiempo de exposición de las semillas. Se tiene que tomar en cuenta que las condiciones de este ensayo son diferentes; pero quizás explique el porqué de que a una concentración de 0.5 por ciento, los tiempos de inmersión en el tetrazolio influyan en el porcentaje de viabilidad.

Tabla 5: Resultados de la prueba de viabilidad

		Tiempo de inmersión de la semilla en tetrazolio				
		2 horas	6 horas	10 horas	14 horas	18 horas
Pericarpio	Removido	53%	50%	35%	28%	23%
	Sin remover	0	3%	5%	8%	10%

Tabla 6: Resumen del porcentaje de viabilidad.

(Tiempo de inmersión) - 02 horas (t1)						(Tiempo de inmersión) - 06 horas (t2)					
T1 (t1c1) - Pericarpio removido			T2 (t1c2) - Pericarpio sin remover			T3 (t2c1) - Pericarpio removido			T4 (t2c2) - Pericarpio sin remover		
Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables
R1	6	60%	R1	0	0%	R1	5	50%	R1	0	0%
R2	5	50%	R2	0	0%	R2	5	50%	R2	0	0%
R3	4	40%	R3	0	0%	R3	6	60%	R3	0	0%
R4	6	60%	R4	0	0%	R4	4	40%	R4	1	0%
Promedio	5	53%	Promedio	0	0%	Promedio	5	50%	Promedio	0	3%

(Tiempo de inmersión) - 10 horas (t3)						(Tiempo de inmersión) - 14 horas (t4)					
T5 (t3c1) - Pericarpio removido			T6 (t3c2) - Pericarpio sin remover			T7 (t4c1) - Pericarpio removido			T8 (t4c2) - Pericarpio sin remover		
Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables
R1	4	40%	R1	0	0%	R1	2	20%	R1	1	10%
R2	4	40%	R2	1	10%	R2	4	40%	R2	1	10%
R3	3	30%	R3	0	0%	R3	3	30%	R3	0	0%
R4	3	30%	R4	1	10%	R4	2	20%	R4	1	10%
Promedio	4	35%	Promedio	1	5%	Promedio	3	28%	Promedio	1	8%

(Tiempo de inmersión) - 10 horas (t3)						(Tiempo de inmersión) - 14 horas (t4)					
T5 (t3c1) - Pericarpio removido			T6 (t3c2) - Pericarpio sin remover			T7 (t4c1) - Pericarpio removido			T8 (t4c2) - Pericarpio sin remover		
Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables
R1	4	40%	R1	0	0%	R1	2	20%	R1	1	10%
R2	4	40%	R2	1	10%	R2	4	40%	R2	1	10%
R3	3	30%	R3	0	0%	R3	3	30%	R3	0	0%
R4	3	30%	R4	1	10%	R4	2	20%	R4	1	10%
Promedio	4	35%	Promedio	1	5%	Promedio	3	28%	Promedio	1	8%

(Tiempo de inmersión) - 18 horas (t5)					
T9 (t5c1) - Pericarpio removido			T10 (t5c2) - Pericarpio sin remover		
Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables	Repetición	Nº semillas viables	% semillas viables
R1	3	30%	R1	1	10%
R2	2	20%	R2	2	20%
R3	1	10%	R3	0	0%
R4	3	30%	R4	1	10%
Promedio	2	23%	Promedio	1	10%

10 Tratamientos
4 repeticiones (10 sem/repetición)
400 semillas evaluadas

Con respecto al análisis de varianza (ANOVA), el DCA con arreglo factorial de 5x2 con cuatro repeticiones consideró dos factores: pericarpio (P) y tiempo de inmersión en tetrazolio (T), así como la interacción de estos (P*T).

El análisis estadístico nos indica que el factor (P) y la interacción (P*T) fueron altamente significativos, en comparación del factor (T), que resultó solo significativo (Tabla N° 07).

Tabla 7: Análisis ANOVA para semillas viables según los factores P, T y P*T.

source	DF	Sum Sq	Mean Sq	F Value	Pr >F	Sign.
PER (P)	1	105.63	105.63	201.19	7.68E-15	***
TIME (T)	4	7.25	1.81	3.452	0.0196	*
PER*TIME (P*T)	4	23.75	5.94	11.310	1.03E-05	***
Residuals	30	15.75	0.52			

Signif Codes:

0'***'0.001'***'0.01'*'0.05'.'0.1''1

El nivel de significancia para la interacción P*T explica en parte los resultados hallados por Guilo et. al. (2015). Esto probablemente explique la importancia de las combinaciones de los factores para obtener mejores respuestas en la tinción de las semillas. Se utilizó las mismas concentraciones del tetrazolio.

Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 0.05 para semillas viables. En la Fig. N° 35 se puede observar que con respecto al factor P (presencia de cubierta protectora o pericarpio) existen diferencias significativas entre las medias de las dos alternativas: pericarpio sin remover y pericarpio removido, siendo el mejor, este último por tener la mayor media (3.750) obteniéndose así en este nivel el mayor porcentaje de semillas viables (Anexo N° 9).

Si bien es cierto, que en el ensayo de germinación hubo apenas un 3 por ciento de semillas duras, el pericarpio constituye una barrera para una adecuada absorción del tetrazolio, pese a que las semillas de alcachofa fueron humidificadas.

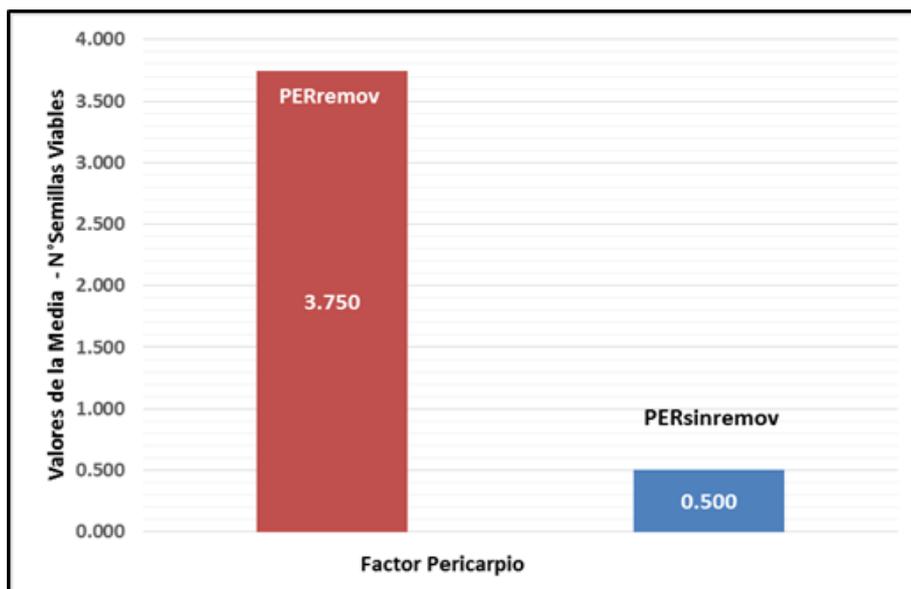


Figura 36: Media de los niveles del factor (P) de semillas viables en la prueba de Tukey.

El factor T en la Fig. N° 36, se puede observar que no existen diferencias significativas entre las medias de los cinco tiempos evaluados (2, 6, 10, 14 y 18 horas de inmersión de las semillas en el reactivo). Asimismo, las evaluaciones a las dos y a las seis horas presentan igual media, así como una ligera diferencia sobre los demás tiempos.

En el trabajo de Guilo et. al. (2015), tampoco los tiempos de exposición (tres y cinco horas en el reactivo) resultaron significativamente diferentes; lo que permite plantear que posiblemente una vez hidratada la semilla, en el embrión se activan rutas metabólicas y que en contacto con una solución de tetrazolio, los electrones liberados, en los tejidos del embrión, reducen a las sales de tetrazolio transformándose en un compuesto estable, no difusible y de un color rojo intenso llamado trifenilformazán (Pérez y Pita, 1999; ISTA, 2009). Esta reacción es rápida, probablemente ocurra a las dos horas para todos los tiempos evaluados, pero como el trifenilformazán es estable y no difusible, la semilla se tiñe; sin embargo, al transcurrir las horas de inmersión en el tetrazolio, esta alcanza coloraciones rojas oscuras, muy fuertes semejantes a quemaduras debido a la sobre tinción.

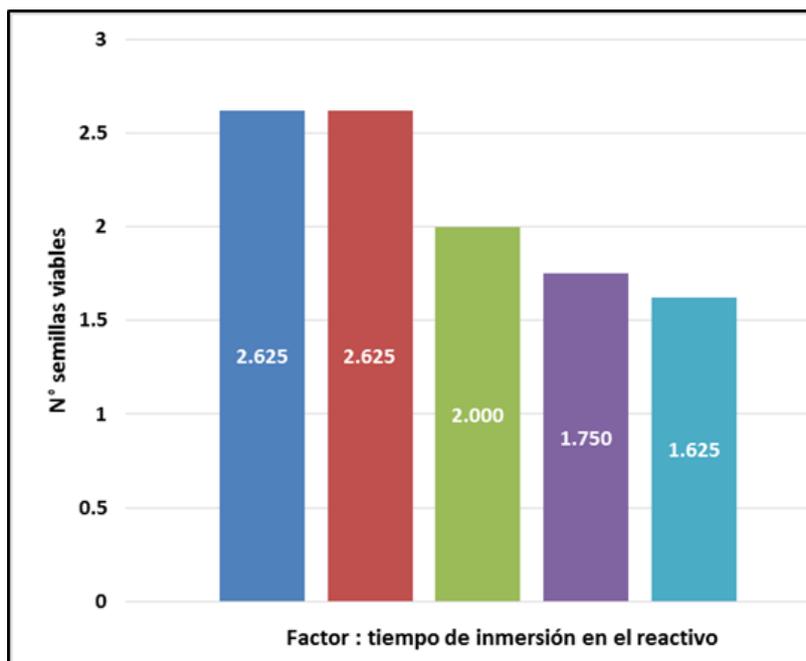


Figura 37: Media de los niveles del factor (T) de semillas viables en la prueba Tukey

Para poder realizar la prueba Tukey de la interacción P*T, se realizó un nuevo ANOVA considerando a esta nueva variable como DCA.

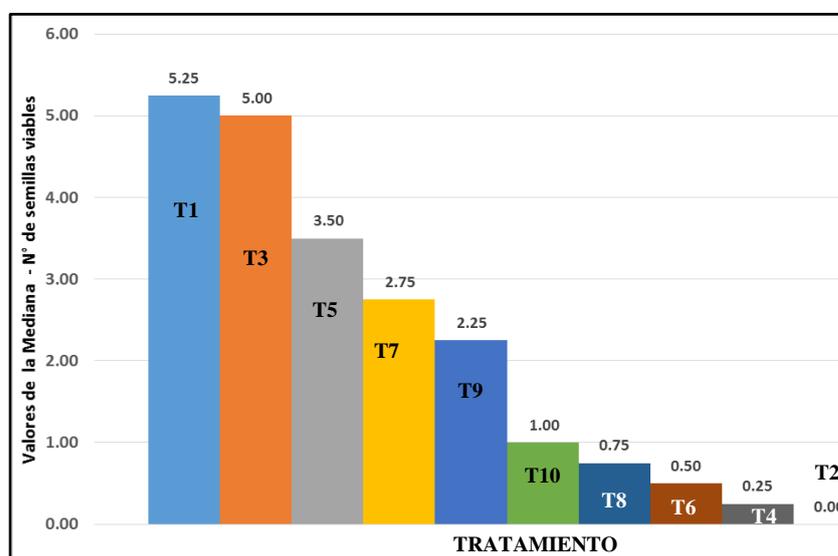


Figura 38: Media de los niveles de la interacción de los factores (P*C) de semillas viables en la prueba Tukey

Los parámetros para el test de viabilidad con tetrazolio de acuerdo a las (Ministerio de Agricultura, Pecuario y Abastecimiento, 2009), indican que la humidificación de las semillas de alcachofa puede realizarse remojándolas en agua por seis a dieciocho horas. En cambio, en el ensayo preliminar se encontró que el remojo más adecuado fue de 72 horas ya que esta técnica aseguró casi el 100 por ciento de la remoción del pericarpio.

En cuanto a la exposición de los tejidos, se optó por la remoción completa del pericarpio y no los cortes longitudinales, ni transversales propuestos por las Regras para Análise de Sementes (Ministerio de Agricultura, Pecuario y Abastecimiento, 2009) para facilitar la evaluación después de la inmersión en tetrazolio.

Esto se debe a que se presenta también una influencia del pericarpio y la temperatura sobre la germinación de Asteraceae. El pericarpio, la capa externa de la semilla, juega un papel crucial en la germinación de las Asteraceae, influenciando diversos aspectos del proceso. La temperatura también es un factor ambiental fundamental que determina la viabilidad y el éxito de la germinación en estas plantas (Jiménez et al., 2021).

Finalmente, para la tinción de las semillas las Regras para Análise de Sementes (Ministerio de Agricultura, Pecuario y Abastecimiento, 2009) recomiendan una solución al 1 por ciento y un tiempo de inmersión que va de 6 a 24 horas a 30 °C. En el ensayo final se pudo hallar que a 0.5 por ciento de concentración, el tiempo de inmersión varió de 2 a 18 horas sin diferencias significativas, sin embargo, en la interacción remoción del pericarpio con 2 horas de inmersión en el tetrazolio resultó significativamente diferente de los otros tratamientos. De esta manera, se puede establecer que esta prueba de viabilidad ha propuesto un nuevo protocolo diferente a lo planteado por las Regras para Análise de Sementes (Ministerio de Agricultura, Pecuario y Abastecimiento, 2009) para las semillas de alcachofa.

Es importante mencionar la influencia y la relación del manejo poscosecha (temperatura de almacenamiento) y la composición de la semilla en Asteráceas.

Por ejemplo, la alta temperatura de secado acelera el deterioro de las semillas de girasol al regular el metabolismo de los ácidos grasos, el glucometabolismo y el equilibrio entre ácido abscísico y giberelina. (Ciencia vegetal, 27 de mayo de 2021, Segundo. Fisiología de cultivos y productos, Volumen 12 – 2021), Instituto de Utilización de Cultivos y Tecnología Nuclear, Academia de Ciencias Agrícolas de Zhejiang, Hangzhou (China).

V. CONCLUSIONES

- La semilla de *Cynara scolymus* L. cv. Lorca está encerrada en un fruto llamado cipsela de forma ovoide, semiaplanada en ambas caras. El pericarpio es de color oscuro y presenta una textura dura, lignificada y protege a la semilla, la cual es probablemente completa, pues posee testa (tegumento), de aspecto trasparente, endospermo y embrión. Los cotiledones, de color cremoso, predominan en toda la conformación de la semilla. Están rodeados por el endospermo que es una capa ligeramente cerosa y brillante. El embrión es de color blanquecino cremoso y pequeño.

Las semillas de *Cynara scolymus* L. tienen una germinación epigea. La germinación fisiológica en promedio termina al tercer día.

- En la prueba preliminar de viabilidad para determinar el tiempo de humidificación resultó el remojo en agua por 72 horas como el mejor, ya que facilitó la remoción del pericarpio de la semilla previo a la tinción.
- En las pruebas de tinción con tetrazolio, el mejor resultado se obtuvo con la remoción del pericarpio y una inmersión en el reactivo de 2 horas.
- El porcentaje de viabilidad de las semillas con pericarpio removido e inmersión en tetrazolio por 2 horas (53%) resultó cercano al porcentaje de germinación (66%).

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda para la prueba de tetrazolio en alcachofa: el remojo de las semillas en agua por 72 horas para la remoción del pericarpio y dos horas de inmersión en tetrazolio al 0.5 por ciento.
- Si bien es cierto, la concentración del tetrazolio fue de 0.5 por ciento en este trabajo se podrían evaluar otros porcentajes, como lo considera las Reglas para Análisis de Sementes (Ministerio de Agricultura, Pecuario y Abastecimiento, 2009).
- En la fase de acondicionamiento de la semilla previa a la tinción, se recomienda evaluar otras alternativas para asegurar la ruptura de la testa sin ocasionar daño fitosanitario.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRARIA NOTICIAS (2022) : (<https://agraria.pe/noticias/exportaciones-peruanas-de-alcachofa-mantuvieron-su-crecimien-30820>)
- APG III (The Angiosperm Phylogen y Group) .2009. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants. APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161. p. 105 – 121.
- APG IV (2016), (en línea). Consultado 05 junio 2016. Disponible en <http://www2.biologie.fu-berlin.de/sysbot/poster/poster1.pdf>
- Arostegui, V. y Diaz, M. 1992. Propagación de especies forestales nativas promisoras de Jenaro Herrera (Es). Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana –INIA. Perú. p. 16-20.
- AOSA (Association of Official Seed Analyst). 2000. Tetrazolium testing handbook. Contribution No 29. p. 3 – 4.
- AOSA (Association of Official Seed Analyst).2005. Seedling evaluation handbook. Contribution N° 35. p. 24 – 26.
- Azcon –Bieto, J y Talon, M. 2008. Fundamentos de la fisiología vegetal. Mc Graw Hill Interamericana de España. 456 p.
- Bekendam, J y Grob, R. 1980. Manual para evaluación de plántulas en análisis de germinación. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Estación de Ensayo de Semillas. España. p. 38 - 40.
- Botánica: términos de la botánica. 2015. (en línea). Consultado 15 de marzo 2016. Disponible en http://ayudahispano-3000.blogspot.com/2015/01/botanica-terminos-de-la-botanica_24.html
- Camacho, F. 1994. Dormición de semillas: causas y tratamientos. México, DF: Editorial trillas, 1994. 128 p.

- Camacho, F. 2011. Dormición de semillas: Causas y tratamientos. 2da ed. México, DF Editorial Trillas. 70p.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1996. Recolección y manejo de semillas forestales. Curso para profesores “Mejoramiento genético, selección y manejo de fuentes semilleras y de semillas forestales”. Costa Rica. p. 71 - 73.
- Courtis, A. 2013. Germinación de semillas. Guía de estudios de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Cátedra de Fisiología Vegetal. Argentina. p. 16 - 18.
- Chase, M.W. y Reveal, J.L. 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161. p.122 – 127.
- Davesa, JA y Lopez, J. 2013. *Cynara* L. (en línea). Consultado el 03 de enero 2017. Disponible en http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/imprensa/tomoXVI/16_159_011_Cynara.pdf .
- De Francesco y González. 2000. Embrión y plántulas de monocotiledóneas y dicotiledóneas. Capítulo: Embrión y semilla. (en línea). Consultado 10 marzo 2016. Disponible en: <http://www.botanica.cnba.uba.ar/Trabprac/Tp4/Embrionysemina.html> .
- Delouche, J; Still, W; Raspet, M. y Lienhard, M, 1971. Prueba de viabilidad de la semilla con tetrazol. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional. (AID). México. p. 1 - 19
- Denegri, G. 2014. Exportaciones peruanas de alcachofas a EE.UU. crecieron 36.5 por ciento a setiembre. Gestión, Lima, PER., dic. 1. (en línea). Consultado 18 de enero 2016. Disponible en <http://gestion.pe/economia/exportaciones-peruanas-alcachofas-eeuu-crecieron-365-setiembre-2115554>.
- Evenari, M., 1957. Les problemes physiologiques de la germination. Bull. Sot. Franc. Physiol. Vtg. 3, p.105 - 124
- FAOSTAT (FAO statistics división) 2013. Base de datos (en línea). Consultado 15 de setiembre 2016. Disponible en <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Furnari, G; Guglielmo, A; Longhitano, N; Pavone, P; Salmeri, C. y Scelsi, F. s.f. Tabla de botánica sistemática. Universidad de Catania. Departamento de Botánica. (en línea).

Consultado 15 de abril 2016. Disponible en http://www.dipbot.unict.it/sistematica_es/Aste_fam.html.

García, 2011. Botánica (en línea). Consultado 22 de febrero 2016. Disponible en http://www.euita.upv.es/varios/biologia/web_frutos/Aquenio.htm.

Garcilazo, CJM. 2010. El cultivo de la alcachofa en el Perú. Universidad San Luis Gonzaga. Ica, Perú. (diapositivas). (en línea). Consultado el 09 de marzo del 2016. Disponible en <http://es.slideshare.net/guesta9d906/el-cultivo-de-la-alcachofa-en-el-peru>.

Guilo, G; Sarapura, O y Del Castillo, N. 2015. Evaluación de la calidad de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Análisis de semillas. 8: p.53 -57.

Haston, E; Richardson, JE; Stevens, PF; Chase, MW y D.J. Harris, DJ. 2009. The linear angiosperm phylogeny group (LAPG) III a linear sequence of the families. APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161: p.128 – 131.

Herrera et. al., 2006. Germinación y crecimiento de la planta. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. Universidad de Costa Rica. p.19 - 21.

ISTA (International Seed Testing Association).1993. International Rules for Seed Testing Zurich, Switzerland.75p.

ISTA (International Seed Testing Association).2009. International Rules for Seed Testing Zurich, Switzerland. p.04 - 18

ISTA (International Seed Testing Association).2016. International Rules for Seed Testing Zurich, Switzerland. (en línea) Consultado el 16 de diciembre del 2016. Disponible en https://www.seedtest.org/en/ista-rules-for-2016-_content---1--1449.html

Jara, L. 1996. Biología de semillas forestales, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza - CATIE. 29p.

Krarpup, C y P. Konar. 1997. Hortalizas de estación cálida. Biología y diversidad cultural. (en línea). P. Universidad Católica de Chile, Vicerrectoría Académica, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. 111p Consultado el 19 de diciembre del 2016. Disponible en http://www.puc.cl/sw_educ/hortalizas/html.

- Krarpup, C y Moreira, I. 1998. Hortalizas de estación fría. Biología y diversidad cultural. (en línea) P. Universidad Católica Chile, VRA, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago, Chile. Consultado el 30 de noviembre del 2016. Disponible en <http://www.pucp.cl/sw-educ/hort0498>.
- Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento. 2009. Regras para análisis de semillas. (en línea). Consultado el 12 de diciembre del 2016. Disponible en http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise__sementes.pdf.
- Moreno, CP. 1996. Vida y obra de granos y semillas (en línea). Fondo de Cultura Económica. 1ª edición. México. 51p. Consultado el 14 de octubre de 2016. Disponible en http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/sec_9.htm.
- Moreno, CP. 2003. Vida y obra de granos y semillas (en línea). Consultado el 18 de agosto del 2016. Disponible en <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/vidayob.htm>.
- Nicho S, P y Catacora P, E. 2008. Cultivo de alcachofa. Programa Nacional de Investigación en Hortalizas del INIEA. Estación Experimental Donoso-CICH-KM-Huaral INIA, 3p.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. 1ra ed. Buenos Aires, Argentina. Hemisferio Sur. p.124 - 128.
- Pérez y Pita ,1999. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. (en línea). Dpto. Biología Vegetal, Universidad Politécnica de Madrid. Consultado el 18 de julio del 2016 Disponibilidad en <http://www.coiaclc.es/wp-content/uploads/2016/05/Viabilidad.pdf>.
- Salisbury, F. y Ross, C. 1994. Fisiología vegetal. Grupo editorial Iberoamérica. México. 415p.
- SENASA. (Servicio de Sanidad Agraria). 2007. Manual de análisis de calidad de semillas de acuerdo a las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA). Perú: E 2.

Soler, 2013. Cardillos de comer y alcachofa silvestre y cultivada. (en línea). Consultado el 23 de julio de 2016. Disponible en http://www.gastrosoler.com/página_nueva_167.htm.

Taiz, L y Zeiger, E. 2006. Fisiología vegetal. Publicación de la Universitat Jaume I. 2: 1040 p.

Varela y Arana, 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pre germinativos. (en línea). Consultado el 27 de agosto de 2016. Disponible en http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_latencia.pdf

Frente. Ciencia vegetal., 27 de mayo de 2021, Segundo. Fisiología de cultivos y productos. Volumen 12 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.628251>

Jimenez Vasquez, A. M et al. Longevidad, viabilidad y germinación de semillas de cuatro especies de Asteraceae consideradas malezas-ruderales con valor etnobotánico. *Bot.sci* [online].2021 vol.99, n.2, pp. 279-290. Epub 08-Abr-2021. ISSN2007- <76. <https://doi.org/10.17129/botsci.2743>.

Judd. Campbell. Kellogg. Stevens (1999). Plant systematic, a phylogenetic approach), (p. 65)

(Tierra Adentro- Hortalizas y flores)-2005. INIA Chile. <https://n9.cl/moj2ay>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Tamaños mínimos de muestra por especie para análisis de semillas (ISTA, 2009)

Species	Maximum weight of lot (kg) (except see 2.8 Note 2)	Minimum Submitted Sample (g)	Minimum working samples (g)	
			Purity analysis (3.5.1)	Other seeds by number (4.5.1)
1	2	3	4	5
<i>Cucurbita pepo</i> L.	20000	1000	700	1000
<i>Cucurbita</i> spp.	10000	350	180	-
<i>Cucurbita</i> hybrids	10000	350	180	-
<i>Cuminum cyminum</i> L.	10000	60	6	60
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (L.) Taub.	20000	1000	100	1000
<i>Cynara cardunculus</i> L.	10000	900	90	900
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	10000	10	1	10

Anexo 2: Tamaños mínimos de muestra de cada especie para análisis de semillas (Ministerio de Agricultura Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

Indica, por especies botánicas, el tamaño máximo de cada lote, el uso de las especies, peso mínimo de la media de la muestra y el empleo de muestras para el análisis de pureza y la determinación de otras semillas por número, así como el número de semillas por gramo.

As abreviaturas tem os seguintes significados:

CO – condimento;	FL – florestal;	FO – forrageira;
FR – frutífera;	GC – grande cultura;	HO – hortícola;
IN – invasora;	ME – medicinal e	OR – ornamental.

Anexo 3: Parámetros para test de germinación (International Seed Testing Association 2016)

Species	Substrate	Temperature* (°C)	First count (d)	Final count (d)	Recommendations for breaking dormancy	Additional directions	Additional advice
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Crambe abyssinica</i>	TP; BP	20↔30; 20	4	7	KNO ₃	–	–
<i>Crotalaria brevidens</i>	BP	20↔30	4	10	–	–	–
<i>Crotalaria juncea</i>	BP; S	20↔30	4	10	–	–	–
<i>Crotalaria lanceolata</i>	BP	20↔30	4	10	–	–	–
<i>Crotalaria pallida</i>	BP	20↔30	4	10	–	–	–
<i>Crotalaria spectabilis</i>	BP	20↔30	4	10	–	–	–
<i>Cucumis melo</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucumis sativus</i>	TP; BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucumis spp.</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucurbita maxima</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucurbita moschata</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucurbita pepo</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucurbita spp.</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cucurbita hybrids</i>	BP; S	20↔30; 25	4	8	–	–	PP advisable
<i>Cuminum cyminum</i>	TP	20↔30	5	14	–	–	–
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	BP	20↔30	5	14	–	–	–
<i>Cynara cardunculus</i>	BP; S	15↔20; 20	7	21	–	–	–
<i>Cynodon dactylon</i>	TP	20↔35; 20↔30	7	21	KNO ₃ ; prechill, light	–	–
<i>Cynosurus cristatus</i>	TP	20↔30	10	21	KNO ₃ ; prechill	–	–
<i>Dactylis glomerata</i>	TP	20↔30; 15↔25	7	21	KNO ₃ ; prechill	–	–
<i>Daucus carota</i>	TP; BP	20↔30; 20	7	14	–	–	–
<i>Deschampsia cespitosa</i>	TP	20↔30; 20	7	16	KNO ₃ ; prechill	–	–
	TP	20↔30; 20	7	16	KNO ₃ ; prechill	–	–

En dicho anexo N°03 se indica por especies botánicas, sub muestras de pesos para trabajar prueba de semillas para las repeticiones pesadas, sustratos, las temperaturas, la duración de prueba e instrucciones adicionales, incluyendo recomendaciones para superar la latencia.

Dentro de cada columna está la secuencia de alternativas, pero no indica ninguna preferencia. Cuando se indican varios métodos y / o alternativa (s) debajo de la deseada (s) está (n) indicado (s) entre paréntesis. Sustratos entre el papel y sobre el papel pueden ser reemplazados por el papel plisado.

Las abreviaturas tienen los siguientes significados:

EA = Entre arena; EP = Entre Papel; PP = Papel plisado; RP = Scroll; SA = Sobre la arena; SP = Sobre el Papel; EE = extracto embriones; GA3 = humedecer el sustrato inicialmente con una solución de ácido giberélico (GA3) en lugar de agua. H2SO4 = escarificadas las semillas en ácido sulfúrico concentrado antes del inicio prueba de germinación. KNO3 = Humedecer el sustrato inicialmente con un 0,2 por ciento de nitrato de potasio (KNO3) en lugar de agua. L = proporcionar luz durante 8-16 horas, puede ser beneficioso para la prueba. La iluminación en general se recomienda para obtener un mejor desarrollo de plantas de semillero. Si en algunos casos es necesaria la luz para promover la germinación semillas de latentes o, por el contrario, la luz puede inhibir la germinación y el sustrato debe mantenerse en la oscuridad, esto se indica en la última columna.

LC = proporcionar luz CONTINUA o durante más de 16 horas al día.

TZ = Realizar la prueba de tetrazolio.

En el primero conteo, el tiempo indicado es aproximado y puede tener una variación 1-3 día como el sustrato y la temperatura elegida. Si la elección es la temperatura baja o cuando la prueba se ejecuta en la arena, el primer conteo se puede retrasar. Para las pruebas en la arena con el conteo final después de 7-10 días, el primer conteo por lo general se omite. En la columna relativa a la temperatura, donde se indica un número aislado significa temperatura constante y cuando son dos números separados por un guion significa temperaturas alternantes.

Anexo 4: Instrucciones para realizar un test de germinación de semillas, por especie botánica (Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

Espécie Botânica	Peso da subamostra para teste por repetições pesadas (g)*	Substrato	Temperatura em °C	Contagem em dias		Instruções adicionais incluindo recomendações para superar dormência
				1ª	Final	
<i>Cucurbita Hybrids</i>	–	EP; EA	20-30; 25	4	8	PP
<i>Cucurbita máxima</i>	–	RP; EA	20-30; 25	4	8	69; 103
<i>Cucurbita moschata</i>	–	RP; EA	20-30; 25	4	8	69; 103
<i>Cucurbita pepo</i>	–	RP; EA	20-30; 25	4	8	69; 103
<i>Cuminum cyminum</i>	–	SP	20-30	5	14	–
	–	–	–	–	–	TZ
<i>Cupressus arizonica</i>	–	SP	20-30	7	28	16; L
<i>Cupressus macrocarpa</i>	–	SP	20-30	14	35	–
<i>Cupressus sempervirens</i>	–	SP	20	7	28	–
<i>Cyamopsis spp.</i>	–	–	–	–	–	TZ
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	–	RP; SP; EA	20-30; 30	5	14	38
<i>Cyclamen africanum</i>	–	SP; RP	20	14	28	71
<i>Cyclamen persicum</i>	–	SP; EP; EA	20; 15	14-21	35	51; KNO ₃
<i>Cydonia oblonga</i>	–	–	–	–	–	TZ
<i>Cymbalaria muralis</i>	–	SP	15; 10	4-7	21	1
<i>Cynara cardunculus</i> (= <i>Cynara scolymus</i>)	–	RP; EA	15-20; 20	7	21	–

Anexo 5: Parámetros para test de viabilidad con tetrazolio (Ministerio de Agricultura Pecuaria y Abastecimiento, 2009)

Tabla describe los procedimientos:

Genero / Especie / Familia: enumera los géneros y especies, y sus respectivas familias, en el cual se indican los métodos de prueba de tetrazolio.

Humectación previa: contiene las opciones de preparación de la semilla o las condiciones secas para la humectación previa en semillas, teniendo en cuenta los tipos de sustrato (A = Agua; EP = Entre papel; SP = Sobre el papel), el tiempo en horas y las temperaturas que se utilizan para este procedimiento. En el caso de más de un sustrato opción, que están separados por un punto y coma.

Preparación/Coloración:

Contiene procedimientos específicos para la preparación de la semilla antes de la tinción. En algunos casos, se enumera más de un procedimiento. Color: contiene la concentración (%) de la solución de tetrazolio, tiempo y temperatura que se utilizan para la de coloración, recordando que este proceso debe realizarse siempre en la oscuridad.

Preparación para la evaluación:

Procedimiento adicional, específico para la preparación de la semilla al momento de la evaluación. Valoración: área máxima admisible de tejido no colorido, flácido o necrótico como se describe por especie.

Gênero/Espécie Familia botânica	Pré-umedecimento			Preparo/ Coloração	Coloração			Preparo para Avaliação	Avaliação: Área Máxima Permitida de Tecido não Colorido, Flácido ou Necrosado	Observação	Bibliografia
	Tipo	Tempo (h)	Temp. (°C)		Solução (%)	Tempo (h)	Temp. (°C)				
<i>Cynara cardunculus</i> (= <i>Cynara solum</i>) (Asteraceae)	EP; A	6-18	25	1. Cortar longitudinalmente através da metade distal dos cotilédones.	1,0	6-24	30	Remover o tegumento da semente ou cortar as sementes longitudinalmente, através do eixo embrionário.	1/3 da ponta da radícula. 1/3 dos cotilédones oposto a intersecção do eixo hipocótilo-radícula ou ao longo da borda dos cotilédones.	Necroses superficiais são permitidas em até metade dos cotilédones.	BRASIL, 1992 MOORE, 1985
				2. Cortar transversalmente através dos cotilédones a 1/3 da parte basal.				1,0			

Anexo 6: Tetrazolium Testing Handbook.

FAMILY: ASTERACEAE

Genera: (I) *Ambrosia, Artemisia, Aster, Baccharis, Baileya, Carthamus, Chrysothamnus, Helianthus*
 (II) *Balsamorhiza, Chrysopsis, Encelia, Galinsoga, Grindelia, Haplopappus, Helenium, Lactuca, Rudbeckia, Verbesina*



1. PRECONDITIONING:

METHOD	TIME (hrs)	TEMP (°C)
imbibe on moist blotters	overnight	20-25

Morphology

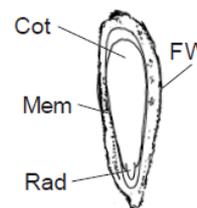


Fig 1 External

Fig 2 Embryo

Notes: If deep dormancy is suspected, prepare seed with GA₃ prior to staining (see sections 6.3 and 8.3.2).



2. PREPARATION & STAINING:

METHOD	TZ Conc(%)	TIME (hrs)	TEMP (°C)
1. (I) cut laterally and remove distal end of cotyledons	1.0	overnight to 24	30-35
2. (II) cut longitudinally, leaving seed intact at top of cotyledons	0.1	overnight	30-35

Notes: Because some species have very thin achenes, artifact damage can occur. Keep cutting instruments sharp. Inner membrane (seed coat) must be cut to allow for TZ penetration and staining.

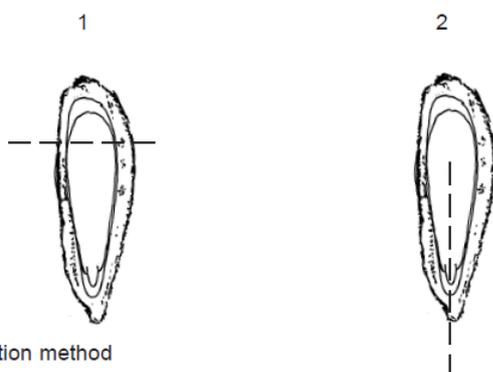


Fig 3 Preparation method

FAMILY: ASTERACEAE

Post Staining Notes: (1) Clear with glycerol or lactic acid or remove seed from achenes.
(2) Remove seed from achenes.



3. EVALUATION:

VIABLE (NORMAL STAINING)

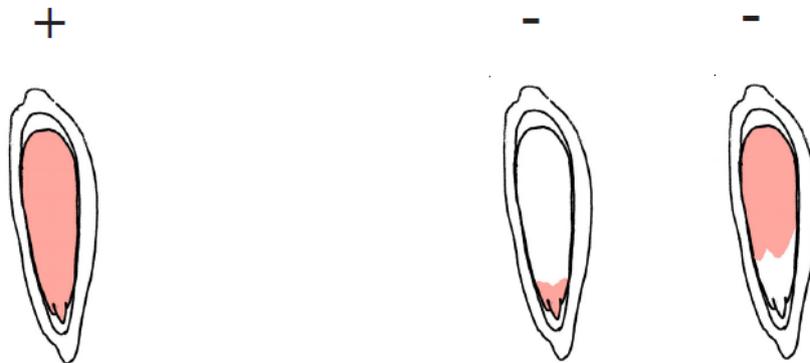
- entire seed evenly stained
- slight damage to root tip acceptable
 - (1) radicle tip stained slightly darker than rest of seed or stained slightly less than rest of seed
 - (2) acceptable if very end of radicle tip unstained
- slight damage to cotyledons

NON-VIABLE (ABNORMAL OR NO STAINING)

- any essential part of seed unstained
- excessive damage to radicle
- cotyledons half or more damaged, or damaged near point of attachment
- immature seed (see sections 15.1.3.2 and 15.1.3.4)
- seed breakage; area around a break may stain as normal
- extensive bruising seen as dark red or grey

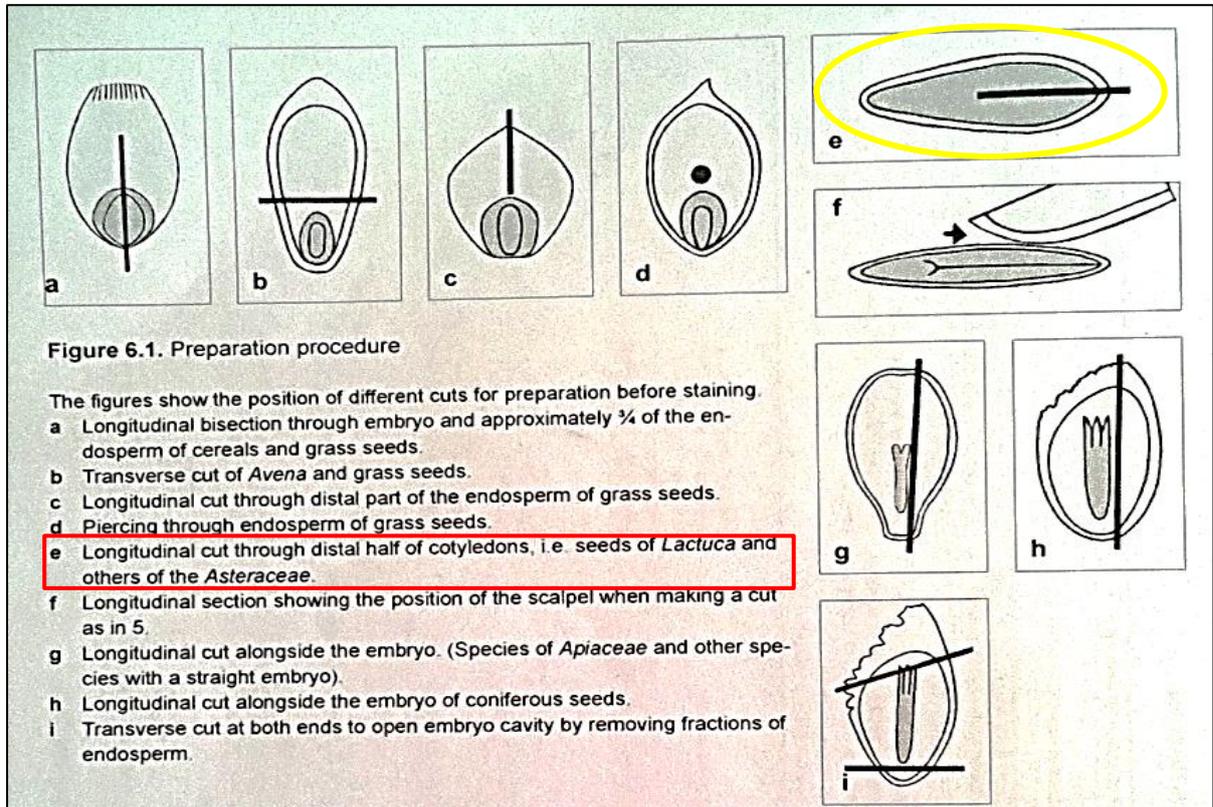
OTHER TISSUE/NOTES

Seed is susceptible to breakage, so care must be taken to remove seed from achenes. Thin membranous envelope may inhibit stain uptake.



Anexo 7: Procedimiento de corte en semillas de Asteráceas (ISTA, 2009)

En el cuadro rotulado se indica el corte longitudinal a través de la mitad distal de los cotiledones para la semilla de *Lactuca* y otras Asteráceas.



TRAT	PER	TIME	REP	SEM.VB
T1	Remov	02hras.	1	6
T1	Remov	02hras.	2	5
T1	Remov	02hras.	3	4
T1	Remov	02hras.	4	6
T2	Sn.Remov	02hras.	1	0
T2	Sn.Remov	02hras.	2	0
T2	Sn.Remov	02hras.	3	0
T2	Sn.Remov	02hras.	4	0
T3	Remov	06hras.	1	5
T3	Remov	06hras.	2	5
T3	Remov	06hras.	3	6
T3	Remov	06hras.	4	4
T4	Sn.Remov	06hras.	1	0
T4	Sn.Remov	06hras.	2	0
T4	Sn.Remov	06hras.	3	0
T4	Sn.Remov	06hras.	4	1
T5	Remov	10hras.	1	4
T5	Remov	10hras.	2	4
T5	Remov	10hras.	3	3
T5	Remov	10hras.	4	3
T6	Sn.Remov	10hras.	1	0
T6	Sn.Remov	10hras.	2	1
T6	Sn.Remov	10hras.	3	0
T6	Sn.Remov	10hras.	4	1
T7	Remov	14hras.	1	2
T7	Remov	14hras.	2	4
T7	Remov	14hras.	3	3
T7	Remov	14hras.	4	2
T8	Sn.Remov	14hras.	1	1
T8	Sn.Remov	14hras.	2	1
T8	Sn.Remov	14hras.	3	0
T8	Sn.Remov	14hras.	4	1
T9	Remov	18hras.	1	3
T9	Remov	18hras.	2	2
T9	Remov	18hras.	3	1
T9	Remov	18hras.	4	3
T10	Sn.Remov	18hras.	1	1
T10	Sn.Remov	18hras.	2	2
T10	Sn.Remov	18hras.	3	0
T10	Sn.Remov	18hras.	4	1

Anexo 9: Resultados – Software R (versión 3.3.1):

TRAT	SUS	PERCP	T°	HRAS.	REP	SEM
T1	Agua	Enterito	Amb.	12hras.	1	0
T1	Agua	Enterito	Amb.	12hras.	2	0
T1	Agua	Enterito	Amb.	12hras.	3	0
T1	Agua	Enterito	Amb.	12hras.	4	0
T2	Agua	Presion	Amb.	12hras.	1	1
T2	Agua	Presion	Amb.	12hras.	2	3
T2	Agua	Presion	Amb.	12hras.	3	1
T2	Agua	Presion	Amb.	12hras.	4	2
T3	Papel	Enterito	Amb.	12hras.	1	0
T3	Papel	Enterito	Amb.	12hras.	2	0
T3	Papel	Enterito	Amb.	12hras.	3	0
T3	Papel	Enterito	Amb.	12hras.	4	0
T4	Papel	Presion	Amb.	12hras.	1	2
T4	Papel	Presion	Amb.	12hras.	2	0
T4	Papel	Presion	Amb.	12hras.	3	3
T4	Papel	Presion	Amb.	12hras.	4	4
T5	Agua	Enterito	Amb.	24hras.	1	0
T5	Agua	Enterito	Amb.	24hras.	2	0
T5	Agua	Enterito	Amb.	24hras.	3	0
T5	Agua	Enterito	Amb.	24hras.	4	0
T6	Agua	Presion	Amb.	24hras.	1	1
T6	Agua	Presion	Amb.	24hras.	2	2
T6	Agua	Presion	Amb.	24hras.	3	2
T6	Agua	Presion	Amb.	24hras.	4	3
T7	Papel	Enterito	Amb.	24hras.	1	0
T7	Papel	Enterito	Amb.	24hras.	2	0
T7	Papel	Enterito	Amb.	24hras.	3	0
T7	Papel	Enterito	Amb.	24hras.	4	0
T8	Papel	Presion	Amb.	24hras.	1	4
T8	Papel	Presion	Amb.	24hras.	2	0
T8	Papel	Presion	Amb.	24hras.	3	3
T8	Papel	Presion	Amb.	24hras.	4	2
T9	Agua	Enterito	Amb.	36hras.	1	0
T9	Agua	Enterito	Amb.	36hras.	2	0
T9	Agua	Enterito	Amb.	36hras.	3	0
T9	Agua	Enterito	Amb.	36hras.	4	0
T10	Agua	Presion	Amb.	36hras.	1	1
T10	Agua	Presion	Amb.	36hras.	2	0
T10	Agua	Presion	Amb.	36hras.	3	1
T10	Agua	Presion	Amb.	36hras.	4	1
T11	Papel	Enterito	Amb.	36hras.	1	0
T11	Papel	Enterito	Amb.	36hras.	2	0
T11	Papel	Enterito	Amb.	36hras.	3	0
T11	Papel	Enterito	Amb.	36hras.	4	0
T12	Papel	Presion	Amb.	36hras.	1	0
T12	Papel	Presion	Amb.	36hras.	2	1
T12	Papel	Presion	Amb.	36hras.	3	1
T12	Papel	Presion	Amb.	36hras.	4	1
T13	Agua	Enterito	Amb.	48hras.	1	0
T13	Agua	Enterito	Amb.	48hras.	2	0
T13	Agua	Enterito	Amb.	48hras.	3	0
T13	Agua	Enterito	Amb.	48hras.	4	0
T14	Agua	Presion	Amb.	48hras.	1	2
T14	Agua	Presion	Amb.	48hras.	2	1
T14	Agua	Presion	Amb.	48hras.	3	0
T14	Agua	Presion	Amb.	48hras.	4	2
T15	Papel	Enterito	Amb.	48hras.	1	0
T15	Papel	Enterito	Amb.	48hras.	2	0
T15	Papel	Enterito	Amb.	48hras.	3	0
T15	Papel	Enterito	Amb.	48hras.	4	0
T16	Papel	Presion	Amb.	48hras.	1	0
T16	Papel	Presion	Amb.	48hras.	2	2
T16	Papel	Presion	Amb.	48hras.	3	0
T16	Papel	Presion	Amb.	48hras.	4	1

TRAT	SUS	PERCP	T°	HRAS.	REP	SEM
T17	Agua	Enterito	Amb.	60hras.	1	0
T17	Agua	Enterito	Amb.	60hras.	2	0
T17	Agua	Enterito	Amb.	60hras.	3	0
T17	Agua	Enterito	Amb.	60hras.	4	0
T18	Agua	Presion	Amb.	60hras.	1	1
T18	Agua	Presion	Amb.	60hras.	2	1
T18	Agua	Presion	Amb.	60hras.	3	2
T18	Agua	Presion	Amb.	60hras.	4	1
T19	Papel	Enterito	Amb.	60hras.	1	0
T19	Papel	Enterito	Amb.	60hras.	2	0
T19	Papel	Enterito	Amb.	60hras.	3	0
T19	Papel	Enterito	Amb.	60hras.	4	0
T20	Papel	Presion	Amb.	60hras.	1	0
T20	Papel	Presion	Amb.	60hras.	2	2
T20	Papel	Presion	Amb.	60hras.	3	2
T20	Papel	Presion	Amb.	60hras.	4	0
T21	Agua	Enterito	Amb.	72hras.	1	3
T21	Agua	Enterito	Amb.	72hras.	2	1
T21	Agua	Enterito	Amb.	72hras.	3	2
T21	Agua	Enterito	Amb.	72hras.	4	1
T22	Agua	Presion	Amb.	72hras.	1	2
T22	Agua	Presion	Amb.	72hras.	2	0
T22	Agua	Presion	Amb.	72hras.	3	3
T22	Agua	Presion	Amb.	72hras.	4	0
T23	Papel	Enterito	Amb.	72hras.	1	1
T23	Papel	Enterito	Amb.	72hras.	2	1
T23	Papel	Enterito	Amb.	72hras.	3	2
T23	Papel	Enterito	Amb.	72hras.	4	1
T24	Papel	Presion	20°C	72hras.	1	1
T24	Papel	Presion	20°C	72hras.	2	1
T24	Papel	Presion	20°C	72hras.	3	1
T24	Papel	Presion	20°C	72hras.	4	2
T25	Agua	Enterito	20°C	12hras.	1	0
T25	Agua	Enterito	20°C	12hras.	2	0
T25	Agua	Enterito	20°C	12hras.	3	0
T25	Agua	Enterito	20°C	12hras.	4	0
T26	Agua	Presion	20°C	12hras.	1	1
T26	Agua	Presion	20°C	12hras.	2	1
T26	Agua	Presion	20°C	12hras.	3	1
T26	Agua	Presion	20°C	12hras.	4	2
T27	Papel	Enterito	20°C	12hras.	1	0
T27	Papel	Enterito	20°C	12hras.	2	0
T27	Papel	Enterito	20°C	12hras.	3	0
T27	Papel	Enterito	20°C	12hras.	4	0
T28	Papel	Presion	20°C	12hras.	1	1
T28	Papel	Presion	20°C	12hras.	2	3
T28	Papel	Presion	20°C	12hras.	3	3
T28	Papel	Presion	20°C	12hras.	4	2
T29	Agua	Enterito	20°C	24hras.	1	0
T29	Agua	Enterito	20°C	24hras.	2	0
T29	Agua	Enterito	20°C	24hras.	3	0
T29	Agua	Enterito	20°C	24hras.	4	0
T30	Agua	Presion	20°C	24hras.	1	2
T30	Agua	Presion	20°C	24hras.	2	2
T30	Agua	Presion	20°C	24hras.	3	3
T30	Agua	Presion	20°C	24hras.	4	1
T31	Papel	Enterito	20°C	24hras.	1	0
T31	Papel	Enterito	20°C	24hras.	2	0
T31	Papel	Enterito	20°C	24hras.	3	0
T31	Papel	Enterito	20°C	24hras.	4	0
T32	Papel	Presion	20°C	24hras.	1	1
T32	Papel	Presion	20°C	24hras.	2	2
T32	Papel	Presion	20°C	24hras.	3	1
T32	Papel	Presion	20°C	24hras.	4	3

TRAT	SUS	PERCP	T°	HRAS.	REP	SEM
T33	Agua	Enterito	20°C	36hras.	1	0
T33	Agua	Enterito	20°C	36hras.	2	0
T33	Agua	Enterito	20°C	36hras.	3	0
T33	Agua	Enterito	20°C	36hras.	4	0
T34	Agua	Presion	20°C	36hras.	1	1
T34	Agua	Presion	20°C	36hras.	2	1
T34	Agua	Presion	20°C	36hras.	3	0
T34	Agua	Presion	20°C	36hras.	4	0
T35	Papel	Enterito	20°C	36hras.	1	0
T35	Papel	Enterito	20°C	36hras.	2	0
T35	Papel	Enterito	20°C	36hras.	3	0
T35	Papel	Enterito	20°C	36hras.	4	0
T36	Papel	Presion	20°C	36hras.	1	1
T36	Papel	Presion	20°C	36hras.	2	2
T36	Papel	Presion	20°C	36hras.	3	1
T36	Papel	Presion	20°C	36hras.	4	1
T37	Agua	Enterito	20°C	48hras.	1	0
T37	Agua	Enterito	20°C	48hras.	2	0
T37	Agua	Enterito	20°C	48hras.	3	0
T37	Agua	Enterito	20°C	48hras.	4	0
T38	Agua	Presion	20°C	48hras.	1	0
T38	Agua	Presion	20°C	48hras.	2	1
T38	Agua	Presion	20°C	48hras.	3	1
T38	Agua	Presion	20°C	48hras.	4	1
T39	Papel	Enterito	20°C	48hras.	1	0
T39	Papel	Enterito	20°C	48hras.	2	0
T39	Papel	Enterito	20°C	48hras.	3	0
T39	Papel	Enterito	20°C	48hras.	4	0
T40	Papel	Presion	20°C	48hras.	1	2
T40	Papel	Presion	20°C	48hras.	2	0
T40	Papel	Presion	20°C	48hras.	3	0
T40	Papel	Presion	20°C	48hras.	4	1
T41	Agua	Enterito	20°C	60hras.	1	0
T41	Agua	Enterito	20°C	60hras.	2	0
T41	Agua	Enterito	20°C	60hras.	3	0
T41	Agua	Enterito	20°C	60hras.	4	0
T42	Agua	Presion	20°C	60hras.	1	1
T42	Agua	Presion	20°C	60hras.	2	2
T42	Agua	Presion	20°C	60hras.	3	2
T42	Agua	Presion	20°C	60hras.	4	0
T43	Papel	Enterito	20°C	60hras.	1	0
T43	Papel	Enterito	20°C	60hras.	2	0
T43	Papel	Enterito	20°C	60hras.	3	0
T43	Papel	Enterito	20°C	60hras.	4	0
T44	Papel	Presion	20°C	60hras.	1	2
T44	Papel	Presion	20°C	60hras.	2	1
T44	Papel	Presion	20°C	60hras.	3	2
T44	Papel	Presion	20°C	60hras.	4	2
T45	Agua	Enterito	20°C	72hras.	1	1
T45	Agua	Enterito	20°C	72hras.	2	3
T45	Agua	Enterito	20°C	72hras.	3	0
T45	Agua	Enterito	20°C	72hras.	4	5
T46	Agua	Presion	20°C	72hras.	1	2
T46	Agua	Presion	20°C	72hras.	2	2
T46	Agua	Presion	20°C	72hras.	3	2
T46	Agua	Presion	20°C	72hras.	4	1
T47	Papel	Enterito	20°C	72hras.	1	2
T47	Papel	Enterito	20°C	72hras.	2	0
T47	Papel	Enterito	20°C	72hras.	3	1
T47	Papel	Enterito	20°C	72hras.	4	1
T48	Papel	Presion	20°C	72hras.	1	2
T48	Papel	Presion	20°C	72hras.	2	2
T48	Papel	Presion	20°C	72hras.	3	3
T48	Papel	Presion	20°C	72hras.	4	1

a) Ensayo Preliminar:

En los tratamientos preliminares, los asteriscos indican que los tratamientos tienen diferencia significativa

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
TRAT    47 127.2  2.706  4.781 2.32e-13 ***
Residuals 144  81.5  0.566

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

-Trabajamos con el clasico alpha 0.05

\$statistics

```

Mean    CV      MSerror   HSD
0.8333333 90.27735 0.5659722 2.162067

```

\$parameters

```

Df ntr StudentizedRange alpha test name.t
144 48    5.747799    0.05 Tukey TRAT

```

-Los grupos que indican diferencia significativa son con las letras distintas

\$groups

```

  trt means M
1  T28 2.25 a
2  T4  2.25 a
3  T45 2.25 a
4  T8  2.25 a
5  T30 2.00 ab
6  T48 2.00 ab
7  T6  2.00 ab
8  T2  1.75 ab
9  T21 1.75 ab
10 T32 1.75 ab
11 T44 1.75 ab
12 T46 1.75 ab
13 T14 1.25 ab
14 T18 1.25 ab
15 T22 1.25 ab
16 T23 1.25 ab
17 T24 1.25 ab
18 T26 1.25 ab
19 T36 1.25 ab
20 T42 1.25 ab
21 T20 1.00 ab
22 T47 1.00 ab
23 T10 0.75 ab
24 T12 0.75 ab
25 T16 0.75 ab
26 T38 0.75 ab
27 T40 0.75 ab

```

28	T34	0.50	ab
29	T1	0.00	b
30	T11	0.00	b
31	T13	0.00	b
32	T15	0.00	b
33	T17	0.00	b
34	T19	0.00	b
35	T25	0.00	b
36	T27	0.00	b
37	T29	0.00	b
38	T3	0.00	b
39	T31	0.00	b
40	T33	0.00	b
41	T35	0.00	b
42	T37	0.00	b
43	T39	0.00	b
44	T41	0.00	b
45	T43	0.00	b
46	T5	0.00	b
47	T7	0.00	b
48	T9	0.00	b

Estadísticas de referencia:

\$means

	SEM	std r	Min	Max
T1	0.00	0.0000000	4	0
T10	0.75	0.5000000	4	0
T11	0.00	0.0000000	4	0
T12	0.75	0.5000000	4	0
T13	0.00	0.0000000	4	0
T14	1.25	0.9574271	4	0
T15	0.00	0.0000000	4	0
T16	0.75	0.9574271	4	0
T17	0.00	0.0000000	4	0
T18	1.25	0.5000000	4	1
T19	0.00	0.0000000	4	0
T2	1.75	0.9574271	4	1
T20	1.00	1.1547005	4	0
T21	1.75	0.9574271	4	1
T22	1.25	1.5000000	4	0
T23	1.25	0.5000000	4	1
T24	1.25	0.5000000	4	1
T25	0.00	0.0000000	4	0
T26	1.25	0.5000000	4	1
T27	0.00	0.0000000	4	0
T28	2.25	0.9574271	4	1
T29	0.00	0.0000000	4	0
T3	0.00	0.0000000	4	0
T30	2.00	0.8164966	4	1

```

T31 0.00 0.0000000 4 0 0
T32 1.75 0.9574271 4 1 3
T33 0.00 0.0000000 4 0 0
T34 0.50 0.5773503 4 0 1
T35 0.00 0.0000000 4 0 0
T36 1.25 0.5000000 4 1 2
T37 0.00 0.0000000 4 0 0
T38 0.75 0.5000000 4 0 1
T39 0.00 0.0000000 4 0 0
T4 2.25 1.7078251 4 0 4
T40 0.75 0.9574271 4 0 2
T41 0.00 0.0000000 4 0 0
T42 1.25 0.9574271 4 0 2
T43 0.00 0.0000000 4 0 0
T44 1.75 0.5000000 4 1 2
T45 2.25 2.2173558 4 0 5
T46 1.75 0.5000000 4 1 2
T47 1.00 0.8164966 4 0 2
T48 2.00 0.8164966 4 1 3
T5 0.00 0.0000000 4 0 0
T6 2.00 0.8164966 4 1 3
T7 0.00 0.0000000 4 0 0
T8 2.25 1.7078251 4 0 4
T9 0.00 0.0000000 4 0 0

```

Residual standard error: 0.7548693, 1 out of 48 effects not estimable.

Estimated effects may be unbalanced

```
> summary(anova)
```

De acuerdo al ANOVA, señalado por los asteriscos, Pericarpio y Humedad son significativos, y los factores Sustrato y Temperatura no significativos. La única interacción significativa es Pericarpio * Humedad

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
SUS	1	0.02	0.02	0.037	0.849
PERCP	1	63.02	63.02	110.596	< 2e-16 ***
TE	1	0.04	0.04	0.065	0.799
H	5	30.12	6.02	10.572	1.14e-08 ***
SUS: PERCP	1	1.36	1.36	2.383	0.125
SUS:TE	1	0.02	0.02	0.033	0.855
PERCP:TE	1	0.19	0.19	0.326	0.569
SUS:H	5	2.51	0.50	0.881	0.495

PERCP:H	5	22.30	4.46	7.827	1.51e-06 ***
TE:H	5	1.46	0.29	0.511	0.768
SUS: PERCP:TE	1	0.75	0.75	1.312	0.254
SUS: PERCP:H	5	1.62	0.32	0.570	0.723
SUS:TE:H	5	1.39	0.28	0.487	0.785
PERCP:TE:H	5	0.71	0.14	0.251	0.939
SUS: PERCP:TE:H	4	0.54	0.13	0.236	0.918
Residuals	145	82.63	0.57		

Signif. Codes:

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Los significativos eran Pericarpio, Horas y Pericarpio: Horas

PERCP (Pericarpio)

Length Class Mode

Statistics 4 data.frame list
Parameters 6 data.frame list
Means 5 data.frame list
Comparison 0 -none- NULL
Groups 3 data.frame list

> tukeyPER

\$statistics

Mean	CV	MSerror	HSD
0.8333333	90.58431	0.5698276	0.2153471

\$parameters

Df	ntr	StudentizedRange	alpha	test	name.t
145	2	2.795136	0.05	Tukey	PERCP

\$means

	SEM	std	r	Min	Max
Entero	0.2604167	0.7711207	96	0	5
Presion	1.4062500	0.9687553	96	0	4

\$comparison

NULL

Hay diferencia significativa entre Presion y Entero

\$groups

trt	means	M
1	Presion	1.4062500 a

2 Entero 0.2604167 b

H (Horas)

Summary (tukeyH)

	Length	Class	Mode
Statistics	4	data.frame	list
Parameters	6	data.frame	list
Means	5	data.frame	list
Comparison	0	-none-	NULL
Groups	3	data.frame	list

> tukeyH

\$statistics

Mean	CV	MSerror	HSD
0.8333333	90.58431	0.5698276	0.5450537

\$parameters

Df	ntr	StudentizedRange	alpha	test	name.t
145	6	4.084534	0.05	Tukey	H

\$means

	SEM	std	r	Min	Max
12hras.	0.93750	1.2164862	32	0	4
24hras.	1.00000	1.2443420	32	0	4
36hras.	0.40625	0.5599179	32	0	2
48hras.	0.43750	0.7156094	32	0	2
60hras.	0.65625	0.8654432	32	0	2
72hras.	1.56250	1.0757593	32	0	5

\$comparison

NULL

Existen diferencias significativas en humedad en ese orden

\$groups

trt	means	M
1	72hras.	1.56250 a
2	24hras.	1.00000 b
3	12hras.	0.93750 bc
4	60hras.	0.65625 bc
5	48hras.	0.43750 c
6	36hras.	0.40625 c

Para hallar los mejores tratamientos o TRAT (combinación de los 4 factores) se realizó una nueva ANOVA con la variable TRAT tipo Dca. TRAT es significativo

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
TRAT	47	127.2	2.706	4.781	2.32e-13 ***
Residuals	144	81.5	0.566		

Signif. Codes:

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey para TRAT (combinación 4 factores)

Length Class Mode

Statistics 4 data.frame list
Parameters 6 data.frame list
Means 5 data.frame list
Comparison 0 -none- NULL
Groups 3 data.frame list
> tukeyTR

\$statistics

Mean	CV	MSerror	HSD
0.8333333	90.27735	0.5659722	2.162067

\$parameters

Df	ntr	StudentizedRange	alpha	test	name.t
144	48	5.747799	0.05	Tukey	TRAT

\$means

	SEM	std	r	Min	Max
T1	0.00	0.0000000	4	0	0
T10	0.75	0.5000000	4	0	1
T11	0.00	0.0000000	4	0	0
T12	0.75	0.5000000	4	0	1
T13	0.00	0.0000000	4	0	0
T14	1.25	0.9574271	4	0	2
T15	0.00	0.0000000	4	0	0
T16	0.75	0.9574271	4	0	2
T17	0.00	0.0000000	4	0	0
T18	1.25	0.5000000	4	1	2
T19	0.00	0.0000000	4	0	0
T2	1.75	0.9574271	4	1	3
T20	1.00	1.1547005	4	0	2
T21	1.75	0.9574271	4	1	3
T22	1.25	1.5000000	4	0	3
T23	1.25	0.5000000	4	1	2
T24	1.25	0.5000000	4	1	2
T25	0.00	0.0000000	4	0	0
T26	1.25	0.5000000	4	1	2
T27	0.00	0.0000000	4	0	0
T28	2.25	0.9574271	4	1	3
T29	0.00	0.0000000	4	0	0
T3	0.00	0.0000000	4	0	0
T30	2.00	0.8164966	4	1	3
T31	0.00	0.0000000	4	0	0

T32 1.75 0.9574271 4 1 3
 T33 0.00 0.0000000 4 0 0
 T34 0.50 0.5773503 4 0 1
 T35 0.00 0.0000000 4 0 0
 T36 1.25 0.5000000 4 1 2
 T37 0.00 0.0000000 4 0 0
 T38 0.75 0.5000000 4 0 1
 T39 0.00 0.0000000 4 0 0
 T4 2.25 1.7078251 4 0 4
 T40 0.75 0.9574271 4 0 2
 T41 0.00 0.0000000 4 0 0
 T42 1.25 0.9574271 4 0 2
 T43 0.00 0.0000000 4 0 0
 T44 1.75 0.5000000 4 1 2
 T45 2.25 2.2173558 4 0 5
 T46 1.75 0.5000000 4 1 2
 T47 1.00 0.8164966 4 0 2
 T48 2.00 0.8164966 4 1 3
 T5 0.00 0.0000000 4 0 0
 T6 2.00 0.8164966 4 1 3
 T7 0.00 0.0000000 4 0 0
 T8 2.25 1.7078251 4 0 4
 T9 0.00 0.0000000 4 0 0

\$comparison

NULL

Los tratamientos con diferencias significativas se aprecian aquí

\$groups

trt means M
 1 T28 2.25 a
 2 T4 2.25 a
 3 T45 2.25 a
 4 T8 2.25 a
 5 T30 2.00 ab
 6 T48 2.00 ab
 7 T6 2.00 ab
 8 T2 1.75 ab
 9 T21 1.75 ab
 10 T32 1.75 ab
 11 T44 1.75 ab
 12 T46 1.75 ab
 13 T14 1.25 ab
 14 T18 1.25 ab
 15 T22 1.25 ab
 16 T23 1.25 ab
 17 T24 1.25 ab
 18 T26 1.25 ab
 19 T36 1.25 ab
 20 T42 1.25 ab
 21 T20 1.00 ab

22 T47 1.00 ab
 23 T10 0.75 ab
 24 T12 0.75 ab
 25 T16 0.75 ab
 26 T38 0.75 ab
 27 T40 0.75 ab
 28 T34 0.50 ab
 29 T1 0.00 b
 30 T11 0.00 b
 31 T13 0.00 b
 32 T15 0.00 b
 33 T17 0.00 b
 34 T19 0.00 b
 35 T25 0.00 b
 36 T27 0.00 b
 37 T29 0.00 b
 38 T3 0.00 b
 39 T31 0.00 b
 40 T33 0.00 b
 41 T35 0.00 b
 42 T37 0.00 b
 43 T39 0.00 b
 44 T41 0.00 b
 45 T43 0.00 b
 46 T5 0.00 b
 47 T7 0.00 b
 48 T9 0.00 b

Para analizar la interacción Pericarpio: Horas era necesario crear una nueva variable para hacerle su respectivo anova y su propia prueba de tukey.

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
PERH    11 115.42  10.492  20.25 <2e-16 ***
Residuals 180  93.25   0.518
  
```

Signif. codes:

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Y esta es la prueba de Tukey para la Variable PERH (Pericarpio: Horas)

Length Class Mode

```

statistics 4 data.frame list
parameters 6 data.frame list
means      5 data.frame list
comparison 0 -none- NULL
groups     3 data.frame list
> tukeyPERH
  
```

\$statistics

Mean CV MSerror HSD
 0.8333333 86.37129 0.5180556 0.8427202

\$parameters

Df ntr StudentizedRange alpha test name.t
 180 12 4.683335 0.05 Tukey PERH

\$means

	SEM	std	r	Min	Max
Ent12h	0.0000	0.0000000	16	0	0
Ent24h	0.0000	0.0000000	16	0	0
Ent36h	0.0000	0.0000000	16	0	0
Ent48h	0.0000	0.0000000	16	0	0
Ent60h	0.0000	0.0000000	16	0	0
Ent72h	1.5625	1.2632630	16	0	5
Pres12h	1.8750	1.0878113	16	0	4
Pres24h	2.0000	1.0327956	16	0	4
Pres36h	0.8125	0.5439056	16	0	2
Pres48h	0.8750	0.8062258	16	0	2
Pres60h	1.3125	0.7932003	16	0	2
Pres72h	1.5625	0.8920949	16	0	3

\$comparison

NULL

La interacción o variable PERH muestra diferencias significativas y estos son los grupos

\$groups

trt	means	M
1	Pres24h	2.0000 a
2	Pres12h	1.8750 a
3	Ent72h	1.5625 ab
4	Pres72h	1.5625 ab
5	Pres60h	1.3125 ab
6	Pres48h	0.8750 b
7	Pres36h	0.8125 bc
8	Ent12h	0.0000 c
9	Ent24h	0.0000 c
10	Ent36h	0.0000 c
11	Ent48h	0.0000 c
12	Ent60h	0.0000 c

b) Ensayo Final:

En este caso los asteriscos indican diferencia significativa de los tratamientos, y entre las medias se verán más diferencias entre tratamientos, varios grupos con diferencias significativas.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
TRAT	9	136.62	15.181	28.91	2.1e-12 ***
Residuals	30	15.75	0.525		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

\$statistics

Mean	CV	MSerror	HSD
2.125	34.09736	0.525	1.747711

\$parameters

Df	ntr	Studentized	Range	alpha	test	name.t
30	10	4.824141		0.05	Tukey	TRAT

-Aquí medias, desviación standar, max y min

\$means

	SEMVB	std r	Min	Max
T1	5.25	0.9574271	4	6
T10	1.00	0.8164966	4	2
T2	0.00	0.0000000	4	0
T3	5.00	0.8164966	4	6
T4	0.25	0.5000000	4	1
T5	3.50	0.5773503	4	3
T6	0.50	0.5773503	4	1
T7	2.75	0.9574271	4	2
T8	0.75	0.5000000	4	1
T9	2.25	0.9574271	4	3

Se muestran las diferencias significativas entre tratamientos:

\$groups

trt means M

1	T1	5.25	a
2	T3	5.00	ab
3	T5	3.50	bc
4	T7	2.75	c
5	T9	2.25	cd
6	T10	1.00	de
7	T8	0.75	de
8	T6	0.50	e
9	T4	0.25	e
10	T2	0.00	e

Se indica que el análisis de varianza muestra que ambos factores Pericarpio y Tiempo tienen significancia, y también es significativa la interacción Pericarpio*Tiempo.

Residual standard error: 0.7245688
 Estimated effects may be unbalanced

```
> summary(av)
          Df Sum Sq Mean Sq  F value Pr(>F)
PER         1 105.63   105.63   201.190 7.68e-15 ***
TIME        4   7.25    1.81     3.452 0.0196 *
PER:TIME    4  23.75    5.94    11.310 1.03e-05 ***
Residuals  30  15.75    0.52
```

Signif. codes:

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Variable PER (pericarpio)

```
summary(tukeyP)
```

```
      Length Class  Mode
statistics 4  data.frame list
parameters 6  data.frame list
means      5  data.frame list
comparison 0  -none-  NULL
groups     3  data.frame list
```

```
> tukeyP
```

\$statistics

```
  Mean  CV MSerror  HSD
2.125 34.09736 0.525 0.4679434
```

\$parameters

```
Df ntr StudentizedRange alpha test name.t
30 2      2.888209 0.05 Tukey PER
```

\$means

```
      SEMVB  std r Min Max
Remov  3.75 1.446411 20 1 6
Sn.Remov 0.50 0.606977 20 0 2
```

\$comparison

NULL

Hay diferencia significativa para pericarpio

\$groups

```
  trt means M
1 Remov  3.75 a
2 Sn.Remov 0.50 b
```

Variable TIME (tiempo)

```
      Length Class  Mode
statistics 4  data.frame list
parameters 6  data.frame list
means      5  data.frame list
comparison 0  -none-  NULL
groups     3  data.frame list
```

\$statistics

```
  Mean  CV MSerror  HSD
```

2.125 34.09736 0.525 1.050845

\$parameters

Df ntr StudentizedRange alpha test name.t
30 5 4.102079 0.05 Tukey TIME

\$means

	SEMVb	std r	Min	Max
02hras.	2.625	2.875388	8	0 6
06hras.	2.625	2.615203	8	0 6
10hras.	2.000	1.690309	8	0 4
14hras.	1.750	1.281740	8	0 4
18hras.	1.625	1.060660	8	0 3

\$comparison

NULL

No hay diferencia en 0.05

\$groups

trt	means	M
1	02hras.	2.625 a
2	06hras.	2.625 a
3	10hras.	2.000 a
4	14hras.	1.750 a
5	18hras.	1.625 a

Para poder hacer Tukey de los tratamientos (TRAT) hay que hacer un nuevo ANOVA que considere a la variable TRAT como DCA, un T es la combinación de dos factores. Y TRAT es significativo

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
TRAT	9	136.62	15.181	28.91	2.1e-12 ***
Residuals	30	15.75	0.525		

Signif. codes:

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Prueba de Tukey con el nuevo ANOVA para TRAT(PerxTime)

```
Length Class Mode
statistics 4 data.frame list
parameters 6 data.frame list
means 5 data.frame list
comparison 0 -none- NULL
groups 3 data.frame list
> tukeyTRAT
```

\$statistics

Mean	CV	MSerror	HSD
2.125	34.09736	0.525	1.747711

\$parameters

Df ntr StudentizedRange alpha test name.t

30 10 4.824141 0.05 Tukey TRAT

\$means

	SEMVB	std	r	Min	Max
T1	5.25	0.9574271	4	4	6
T10	1.00	0.8164966	4	0	2
T2	0.00	0.0000000	4	0	0
T3	5.00	0.8164966	4	4	6
T4	0.25	0.5000000	4	0	1
T5	3.50	0.5773503	4	3	4
T6	0.50	0.5773503	4	0	1
T7	2.75	0.9574271	4	2	4
T8	0.75	0.5000000	4	0	1
T9	2.25	0.9574271	4	1	3

\$comparison

NULL

Significancia de los tratamientos

\$groups

	trt	means	M
1	T1	5.25	a
2	T3	5.00	ab
3	T5	3.50	bc
4	T7	2.75	c
5	T9	2.25	cd
6	T10	1.00	de
7	T8	0.75	de
8	T6	0.50	e
9	T4	0.25	e
10	T2	0.00	e

Anexo 10: Imagen del sobre de la semilla de *Cynara scolymus* L.

