

Informe de la Universidad de Letonia — versión inglesa

Versión complementaria en inglés del informe suministrado para facilitar la revisión.

Texto completo y tablas en el idioma seleccionado. Traducción automática con revisión terminológica y numérica; no es una traducción certificada. Se conservan las afirmaciones de los autores, incluidas las controvertidas. Las notas editoriales se presentan por separado.

Nota editorial

Usar el informe original y su complemento juntos; ninguno demuestra una afirmación general de rendimiento. Un valor inferior al límite de detección o cuantificación no demuestra la ausencia de una sustancia. Las afirmaciones del informe sobre metales pesados deben leerse junto con los valores medidos, las unidades y los límites de sus tablas.

[NanoImport — Nota editorial ↗](#)

Cliente: SIA JIKO Ent

Contratista: Asistente de Investigación Lauris Arbidans

Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías, Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Letonia

Dirección: Jelgavas iela 1, LV-1004, Riga

Informe

Evaluación química de un bioestimulante de turba y hongos en el marco del bono LIAA No. 9.2-29-V-2025/64

Riga, 2026

Tareas de trabajo

Realizar la caracterización físico-química y agronómica integral de un bioestimulante de turba y hongos, encargado por SIA JIKO Ent en el marco del bono LIAA No. 9.2-29-V-2025/64. La caracterización incluye:

Pruebas de germinación en tres (3) cultivos (guisantes, trigo duro, avena), evaluando la eficacia del bioestimulante a diferentes concentraciones;

Evaluación del efecto del bioestimulante sobre la germinación al aplicar un tratamiento de grabado de semillas;

Determinación del contenido de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos en el producto mediante métodos espectrofotométricos y TOC;

Determinación del contenido de proteínas, carbohidratos y quitina para caracterizar el perfil de componentes bioactivos en el bioestimulante;

Determinación cuantitativa de micro y macroelementos utilizando el ICP-OES y el método de Kjeldahl;

Caracterización físico-química de ácidos húmicos utilizando FTIR, UV-Vis y espectroscopía FLR 3D-EEM.

Materiales y métodos

Muestra

En agosto de 2025, el bioestimulante fue entregado en un bote de 5 L, etiquetado SK-04-S01-N.

Aislamiento de quitina

100 mL de bioestimulante se centrifugaron durante 30 minutos a 4500 rpm. Después de la centrifugación, el residuo sólido se recogió, se resuspendió en 0,1 M de NaOH y se agitó durante 60 minutos. La muestra se centrifugó de nuevo a 4500 rpm durante 30 minutos. El proceso se repitió 3 veces hasta que ya no se detectó la presencia de sustancias húmicas en la muestra. El residuo sólido se lavó con agua desionizada a $\text{pH} < 9$. Luego se agregó 1 M de NaOH y, mientras se agitaba, la muestra se calentó a 70 °C durante 2 horas y se centrifugó. El residuo sólido se enjuaga con agua desionizada a pH neutro, luego se añade 0,5 M HCl y la muestra se centrifuga de nuevo. La muestra se enjuaga a pH neutro con agua desionizada, luego se agrega 1% de NaClO y se mezcla a temperatura ambiente durante 60 minutos. Después de eso, la muestra se lavó con etanol al 70% y se secó durante 3 horas en un horno de secado a 40 °C.

Extracción de ácidos húmicos

Se filtraron 200 mL de bioestimulante a través de papel de filtro. Después de la filtración, la solución se centrifugó en una centrífuga de laboratorio a 4500 rpm. Después de la centrifugación, la solución se acidificó con HCl a $\text{pH} < 1$, se filtró y los ácidos húmicos precipitados se lavaron con solución de CaCl_2 de 0,1 M. Luego se lavaron con agua desionizada a pH neutro y se secaron en un horno de secado durante 2 horas a 105 °C.

Determinación cuantitativa de ácidos fúlvicos y húmicos

El bioestimulante fue centrifugado a 4500 rpm y se recogió la fracción líquida. La muestra se diluyó 50 veces y se midió espectrofotométricamente a 410 nm. La concentración se calculó a partir de una curva de calibración obtenida de los ácidos húmicos extraídos. Después de la extracción de

ácidos húmicos, la solución de ácido fúlvico separada del bioestimulante se recolectó por separado, diluida 10 veces, y se midió espectrofotométricamente a 410 nm utilizando un estándar de ácido fúlvico como referencia.

Utilizando una pipeta automática de 1000 µL, 500 µL de solución bioestimulante se transfirió cuantitativamente en un matraz volumétrico de 100 mL. En un matraz volumétrico separado de 100 mL, se transfirieron 500 µL de la solución de ácido fúlvico separada y se diluyó a la marca con agua desionizada. Las soluciones diluidas se analizaron con un analizador de carbono orgánico total (Shimadzu TOC-V CSN) y los resultados se expresaron en miligramos de carbono orgánico (COT) por litro de bioestimulante.

Espectros de absorción molecular UV-Vis

Se pesó 20 mg de ácido húmico extraído y purificado en balanzas analíticas, se transfirió cuantitativamente a un matraz volumétrico de 1 L y se disolvió en solución de NaHCO₃ de 0,5 M. Las soluciones se midieron en una cubeta de cuarzo de 1 cm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS UV-1800 en el rango de 220-700 nm con un paso de 1 nm. Para la caracterización del ácido húmico, se utilizaron las relaciones de absorbancia a longitudes de onda de 254 nm (E2), 365 nm (E3), 465 nm (E4) y 665 nm (E6) y se expresaron como E2/E3, E2/E4, E2/E6 y E4/E6.

Espectroscopia de FTIR

Antes del análisis, KBr se secó durante 2 horas a 105 °C. Luego se pesó 200 mg, se agregaron 2 mg de ácido húmico y se mezcló. La mezcla se presionó en un pellet y se midió con un espectrómetro FTIR (Shimadzu IR-Tracer 100). Las mediciones se realizaron en el rango 4000–400 cm⁻¹ con una resolución de 8 cm⁻¹ y 16 escaneos.

Matrices de excitación/emisión de fluorescencia 3D (FLR 3D-EEM)

Las matrices de FLR 3D-EEM fueron obtenidas usando un espectrofotómetro de la fluorescencia de HORIBA Jobin Yvon Aqualog. Las soluciones se prepararon en 0,5 M NaHCO₃ a una concentración de 20 mg/L. Las muestras se midieron en cubetas de cuarzo de 1 cm sin lados rectificadas. Longitudes de onda de excitación: 240-600 nm; Longitudes de onda de emisión: 260-620 nm. Tamaño de paso: 3 nm. Después de las mediciones, la dispersión de Rayleigh de primer orden fue enmascarada. Los datos espectrales de fluorescencia fueron procesados y visualizados utilizando RStudio (versión 2024.12.1.563) y las bibliotecas de R (versión 4.5.0) readxl, dplyr, akima y ggplot2. Los datos fueron interpolados utilizando un método lineal bidimensional (akima::interp) en función de las longitudes de onda de excitación y emisión.

Análisis de carbohidratos totales

Para el análisis, 1 mL de muestra se transfirió a un tubo de ensayo de vidrio, se agregó 1 mL de solución de fenol al 5% y la muestra se incubó durante 10 minutos. Luego se agregaron 4 mL de H₂SO₄ concentrado, se incubó durante 20 minutos y se midió espectrofotométricamente a 490 nm. Las muestras se midieron en 3 repeticiones utilizando glucosa como estándar.

Análisis de microelementos

Aproximadamente 5 mL de bioestimulante se pesó en recipientes de PTFE, se secó hasta secarse y se agregaron 10 mL de HNO₃ concentrado. Los recipientes se colocaron en soportes resistentes a la presión, sellados, y se realizó la digestión húmeda utilizando un sistema de digestión por

microondas (Milestone Ethos EASY). La muestra se calentó durante 15 minutos a 200 °C a una potencia máxima de 1800 W, se mantuvo durante otros 15 minutos y, después de la digestión, se enfrió a temperatura ambiente. La muestra se transfirió cuantitativamente en un tubo de polipropileno de 50 mL y se diluyó a 50 mL utilizando agua desionizada (0,055 µS/cm). Las muestras se prepararon en 2 repeticiones.

Antes del análisis, la muestra se diluyó adicionalmente 10 veces y se analizó utilizando un espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (serie Thermo Scientific iCAP 7200). Parámetros ICP: potencia de RF 1150 W; Flujo de gas de plasma (argón 5.0) 12 L/min; Flujo de gas del nebulizador 0.5 L/min; Flujo de gas auxiliar (nitrógeno 5.0) 0.15 L/min; Caudal de muestra 1 mL/min. Se determinaron un total de 29 elementos: Al (396.152 nm, radial); As (189,042 nm, axial); B (249,773 nm, radial); Ba (455,403 nm, axial); Be (313,042 nm, radial); Ca (422,673 nm, radial); Cd (228,802 nm, axial); Co (228,616 nm, axial); Cr (267,716 nm, axial); Cu (324,754 nm, axial); Fe (240,488 nm, radial); K (766,490 nm, radial); Li (670,784 nm, radial); Mg (285,213 nm, radial); Mn (257,610 nm, radial); Mo (202,030 nm, axial); Na (589,592 nm, radial); Ni (231,604 nm, axial); P (177,495 nm, axial); Pb (220,353 nm, axial); S (180,731 nm, axial); Sb (206,833 nm, axial); Se (196,090 nm, axial); Si (251,611 nm, radial); Sr (407,771 nm, radial); Ti (334,941 nm, radial); Tl (190,856 nm, axial); V (292,402 nm, axial); Zn (213,856 nm, axial). Las curvas de calibración se prepararon utilizando materiales de referencia estandarizados.

Determinación de nitrógeno total (Kjeldahl)

Se pesó 0,5 g de muestra de bioestimulante completamente seca y sin filtrar en balanzas analíticas y se transfirió a un matraz de Kjeldahl. Se agregaron 10 mL de H₂SO₄ concentrado y la muestra se calentó en una unidad de digestión Kjeldahl (Buchi SpeedDigester K-436 equipada con un módulo de neutralización de ácido Buchi Scrubber K-415) durante 2 horas hasta que toda la matriz se mineralizó. Después de la digestión, la muestra se destiló utilizando un Buchi KjellFlex K-360 y el destilado se valoró con 0,05 M H₂SO₄.

Semillas probadas

El trigo duro (*Triticum durum*) y la avena (*Avena sativa*) se cosecharon a finales de agosto de 2025 en la parroquia de Aknīste. Guisantes (*Pisum sativum*) fueron comprados en octubre de 2025 de la tienda minorista Depo en Riga.

Pruebas de germinación

Se seleccionaron cuatro concentraciones de prueba de bioestimulantes: 1:500, 1:350, 1:200 y 1:100 (obtenidas diluyendo el bioestimulante 500, 350, 200 y 100 veces). Para evaluar el efecto del grabado, las semillas fueron grabadas con NaOH al 1% y marcadas con la dilución respectiva y "kod" (grabado). Las semillas se mezclaron en solución de NaOH durante 2 minutos y se enjuagaron con agua desionizada. Antes de sembrar en placas de germinación, las semillas se mantuvieron durante la noche en las respectivas diluciones de bioestimulante. Se aplicaron 10 mL de dilución de bioestimulante a cada placa de germinación y se colocaron 10 semillas en ella. Las placas se sellaron e incubaron en un termostato a 22 °C durante 7 días con un ciclo de 12 h de luz / 12 h de oscuridad para todos los tipos de semillas. Se utilizó agua desionizada como control.

Resultados

Para evaluar la composición del bioestimulante, se determinó el contenido de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, proteínas totales, carbohidratos totales, nitrógeno total, carbono orgánico total en el bioestimulante, y carbono orgánico total en la solución de ácido fúlvico separada. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Cuadro 1. Resultados generales del indicador del bioestimulante

Tabla 1		
Parámetro	Resultado	Unidad
Contenido de materia seca	$12,19 \pm 0,17$	%
Ácidos húmicos	624 ± 12	mg/L
Ácidos fúlvicos	712 ± 21	mg/L
Proteína total	$1,30 \pm 0,07$	%
Total de carbohidratos	198 ± 6	mg/L
Nitrógeno total	$0,21 \pm 0,04$	%
TOC - bioestimulante	1150 ± 40	mg/L
TOC - solución de ácido fúlvico	790 ± 30	mg/L

La tabla 1 refleja los indicadores de composición general del bioestimulante. Se observó un alto contenido de materia seca ($12,19 \pm 0,17\%$), compuesta principalmente por partículas coloidales en la solución. Entre las sustancias húmicas, predominan los ácidos fúlvicos en el producto (712 ± 21 mg/L), mientras que el contenido de ácido húmico medido es de 624 ± 12 mg/L. Se debe prestar atención al hecho de que el producto contiene una cantidad considerable de varios subproductos solubles; Por lo tanto, el contenido de ácido húmico basado en análisis de carbono orgánico no es inequívoco. Sin embargo, los análisis de la solución separada de los ácidos húmicos muestran una tendencia que indica una pérdida de 360 mg/L C del producto al eliminar el carbono asociado al ácido húmico. Esto puede aproximarse a ~ 720 mg/L de ácidos húmicos, asumiendo un contenido medio de carbono del 50% en ácidos húmicos, pero la validez de esta conclusión debe ser evaluada críticamente; Por lo tanto, el análisis espectrofotométrico se considera el valor más confiable.

Durante el aislamiento secuencial y la purificación de la quitina de la muestra bioestimulante como se describe en el flujo de trabajo, primero separando las sustancias húmicas, luego eliminando las proteínas, seguido de un proceso de desmineralización, luego un paso de blanqueamiento del material (eliminación de otros pigmentos orgánicos) y, finalmente, un paso para eliminar los pigmentos lipofílicos. Se obtuvo una quitina de color blanco grisáceo con un contenido total de ~ 235 mg/L. La quitina purificada se muestra en la Figura 1.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Figura 1. Quitina separada y purificada a partir del bioestimulante.

El análisis de micro y macroelementos del bioestimulante se realizó mediante el método ICP-OES. En total se determinaron 29 elementos (Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sr, Ti, Tl, V, Zn). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Cuadro 2. Composición de micro y macroelementos del bioestimulante ($\mu\text{g/L}$)

Tabla 2	
Elemento	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
Al	143 ± 5
As	$<1,77$
B	$1,057 \pm 0,114$
Ba	$0,28 \pm 0,09$
Be	$<0,014$
Ca	348 ± 12
Cd	$<0,15$
Co	$<0,25$

Cr	0,462 ± 0,007
Cu	1,82 ± 0,16
Fe	36,3 ± 0,4
K	34955 ± 1880
Li	<0,65
Mg	45,83 ± 0,02
Mn	0,57 ± 0,05
Mo	<0,80
Na	150 ± 3
Ni	0,381 ± 0,008
P	17370 ± 740
Pb	<1,12
S	104 ± 5
Sb	<2,44
Se	<2,00
Si	23 ± 4
Sr	1,053 ± 0,013
Ti	0,57 ± 0,19
Tl	<2,89
V	<0,12
Zn	2,19 ± 0,13

Según el análisis elemental (tabla 2), el potasio y el fósforo dominan claramente en el prototipo de bioestimulante (K 34955 ± 1880; P 17370 ± 740), con concentraciones varios órdenes de magnitud superiores a las de los demás elementos. Por tanto, la formulación se orienta a un efecto fisiológico impulsado por K/P: metabolismo energético, desarrollo radicular, osmorregulación y tolerancia al estrés. El siguiente nivel de concentración incluye Ca 348 ± 12; Na 150 ± 3; Al 143 ± 5; S 104 ± 5, mientras que Mg es relativamente bajo (Mg 45.83 ± 0.02). Entre los microelementos destaca Fe (Fe 36.3 ± 0.4); también están presentes: Si 23 ± 4; Zn 2.19 ± 0.13; Cu 1.82 ± 0.16; B 1.057 ± 0.114; Sr 1.053 ± 0.013; Mn 0.57 ± 0.05. Los demás elementos se encuentran a bajas concentraciones (Cr 0.462 ± 0.007; Ni 0.381 ± 0.008; Ba 0.28 ± 0.09; Ti 0.57 ± 0.19). Como aspecto positivo, varios elementos potencialmente tóxicos están por debajo del límite de detección (As < 1.77; Cd < 0.15; Pb < 1.12; V < 0.12; Co < 0.25; Mo < 0.80; Se < 2.00; Sb < 2.44; Tl < 2.89; Be < 0.014), lo que indica la ausencia de metales pesados en el producto.

Para caracterizar los ácidos húmicos en el bioestimulante, se utilizaron varios análisis espectroscópicos: FTIR, espectroscopía de absorción molecular UV-Vis y espectroscopía de fluorescencia 3D-EEM. Los resultados se muestran en las Figuras 2-4.



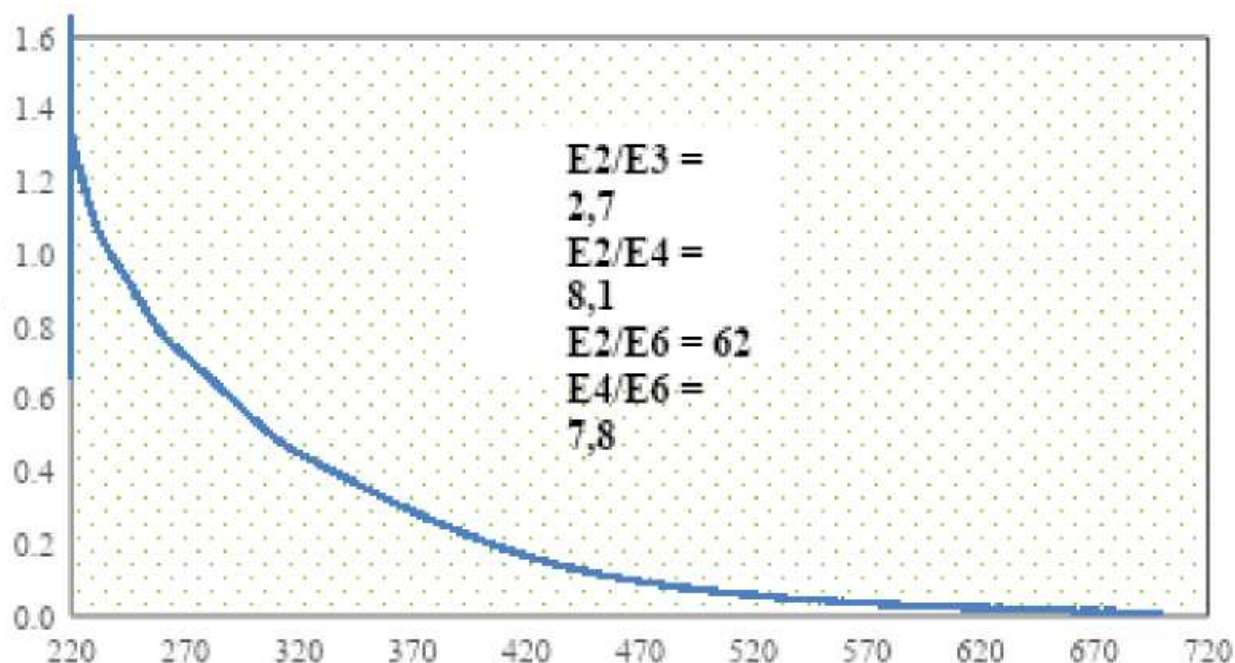
Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Transmitancia relativa. Número de onda (cm^{-1}). O-H; $\equiv\text{C-H}$; $=\text{C-H}$; C-H (alifático); CO_2 ; C=O; C=C; flexión N-H; flexión C-H; C-O/C-N; C-Hal / C-H (aromático).

Figura 2. Espectro FTIR de ácidos húmicos extraídos del bioestimulante.

El espectro FTIR de ácidos húmicos de turba natural que se muestra en la Figura 2 es típico de una matriz de ácido húmico heterogénea con muchos grupos funcionales polares y una estructura aromática-alifática. La banda ancha y pronunciada alrededor de $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ corresponde a vibraciones de estiramiento O-H (fenoles, alcoholes, ácidos carboxílicos) y generalmente también indica un fuerte enlace de hidrógeno. Las características más débiles alrededor de $\sim 3100\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ sugieren estructuras aromáticas u olefínicas, mientras que las bandas alrededor de $\sim 2920\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ caracterizan el estiramiento alifático C-H (CH_2/CH_3), es decir, cadenas laterales y fragmentos de lignina. Una característica clave del ácido húmico es típicamente una fuerte absorción alrededor de $\sim 1720\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$, que es visible aquí como una señal sustancial y corresponde al estiramiento C=O (principalmente grupos carboxilo, pero también posibles ésteres/cetonas) - un importante indicador de la acidez del ácido húmico y la capacidad de complejación de metales. En la región $\sim 1620\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$, predominan los C=C aromáticos y/o las contribuciones de grupos carbonilo conjugados, lo que indica un esqueleto aromático (lignina/productos de humificación). Alrededor de $\sim 1550\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, las características de flexión N-H de las amidas pueden aparecer, mientras que las bandas $\sim 1450\text{--}1380\text{ cm}^{-1}$ se asocian generalmente con la flexión C-H y un posible componente de vibraciones simétricas COO^- . En la zona de "huella digital" $\sim 1250\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$, se observan vibraciones C-O y C-O-C (fenoles, alcoholes, éteres, residuos de polisacáridos) y en parte C-N, lo que refleja la diversidad de sustancias húmicas. A $\sim 900\text{--}700\text{ cm}^{-1}$, se observa una curvatura aromática C-H fuera del plano, mientras que la banda alrededor de $\sim 2350\text{ cm}^{-1}$ es una señal típica de CO_2 (adsorbida de la atmósfera) y generalmente no es un indicador de la estructura de la muestra en sí. En general, el espectro confirma que los grupos

carboxilo y fenólicos sobre una base aromática con una mezcla de cadenas alifáticas dominan en los ácidos húmicos presentes en el bioestimulante, de acuerdo con su alta reactividad y potencial de complejación/bioestimulación.

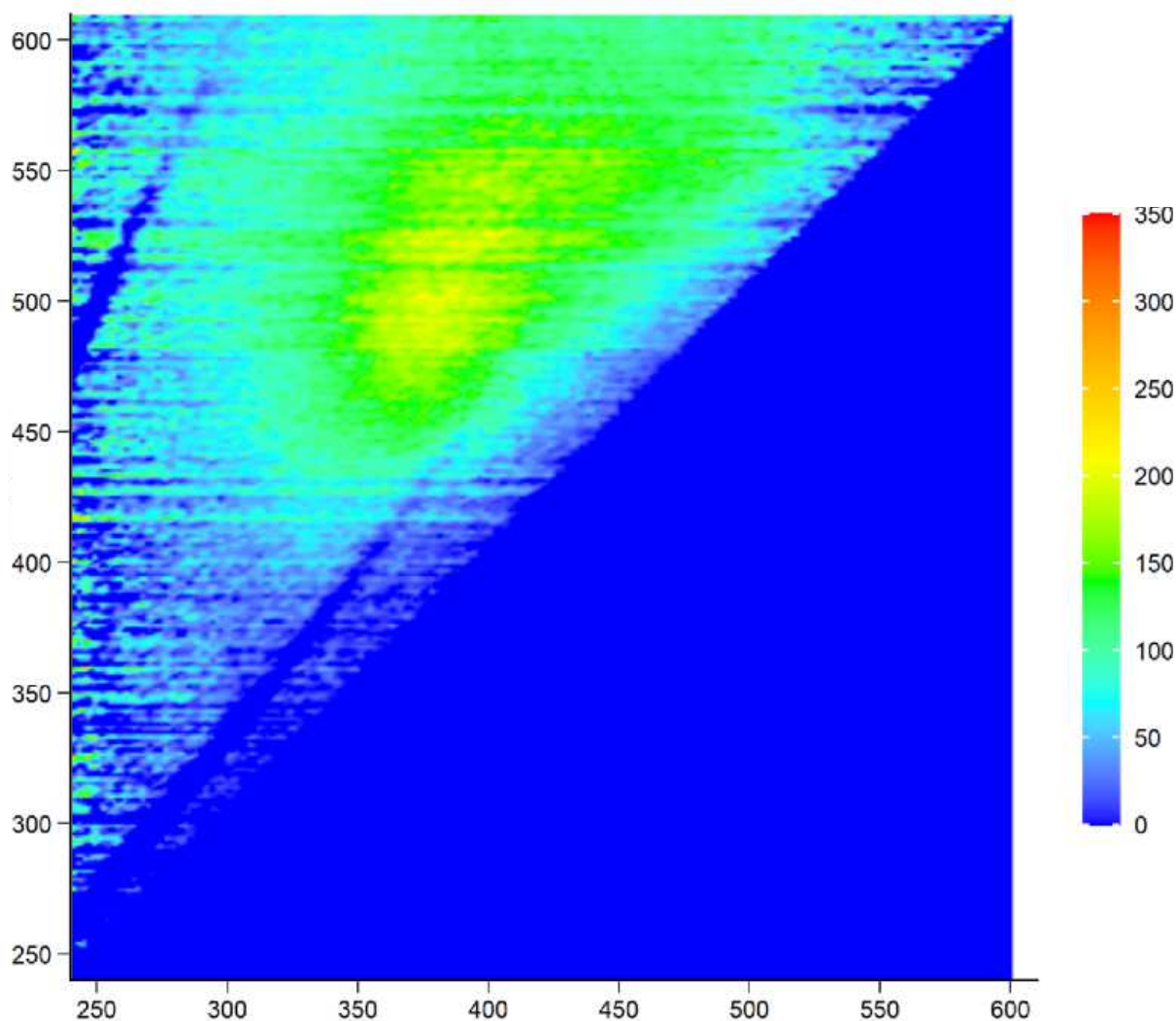


Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Absorción, u.a. $E2/E3 = 2,7$; $E2/E4 = 8,1$; $E2/E6 = 62$; $E4/E6 = 7,8$.

Figura 3. Espectro de absorción molecular UV-Vis de ácidos húmicos extraídos del bioestimulante.

El espectro UV-Vis en la Figura 3 indica una característica típica de los ácidos húmicos: una absorbancia decreciente suavemente sin picos estrechos y distintos, lo que apunta a una amplia mezcla de cromóforos (aromáticos, fenólicos, grupos carbonilos, etc.) y estructuras. El valor calculado de $E4/E6 = 7,8$ es mayor que el valor típico para los ácidos húmicos (<5), lo que indica un mayor grado de humificación, una mayor masa molecular media y estructuras más condensadas y aromáticas. $E2/E3 = 2,7$ (inferior al rango frecuentemente citado de 3-5) indica una proporción relativamente mayor de componentes más conjugados/humificados absorbiendo a 365 nm y un cambio hacia materia orgánica más fuertemente humificada. $E2/E4 = 8,1$ indica una presencia pronunciada de grupos funcionales derivados de lignina y signos de aromaticidad, mientras que $E2/E6 = 62$ refleja un cambio del equilibrio en favor de una fracción menos humificada y menos condensada con agregados más pequeños. En general, se puede concluir que los ácidos húmicos de turba extraídos del bioestimulante son una mezcla heterogénea que contiene tanto fragmentos aromáticos/lignina como una proporción sustancial de una fracción más ligera y menos humificada, que generalmente se asocia con una mejor solubilidad y disponibilidad de grupos funcionales.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Emisión, nm Excitación, nm. Intensidad, au.

Figura 4. Espectro FLR 3D-EEM de ácidos húmicos extraídos del bioestimulante.

En la matriz 3D-EEM (Figura 4), una amplia región de fluorescencia de ácido húmico es visible con un máximo aproximadamente en $Ex \sim 390-430$ nm y $Em \sim 520-560$ nm (campo amarillo), lo que indica estructuras fuertemente conjugadas, aromáticas y relativamente más condensadas (una fracción más humificada característica de la turba). Además, un “hombro” es visible alrededor de $Ex \sim 320-360$ nm; $Em \sim 440-500$ nm, que es característico de los ácidos húmicos, y un componente más débil alrededor de $Ex \sim 250-280$ nm; $Em \sim 420-460$ nm, que es más característico de los componentes de lignina. En general, el espectro muestra que la muestra es una mezcla heterogénea de cromóforos con diferentes grados de humificación. Al mismo tiempo, la región de fluorescencia similar a la proteína (señales de tipo tirosina/triptófano alrededor de $Ex \sim 275$ nm y $Em \sim 300-350$ nm) prácticamente no se expresa, lo que indica una baja proporción de impurezas fácilmente degradables y un dominio general de sustancias húmicas más estables.

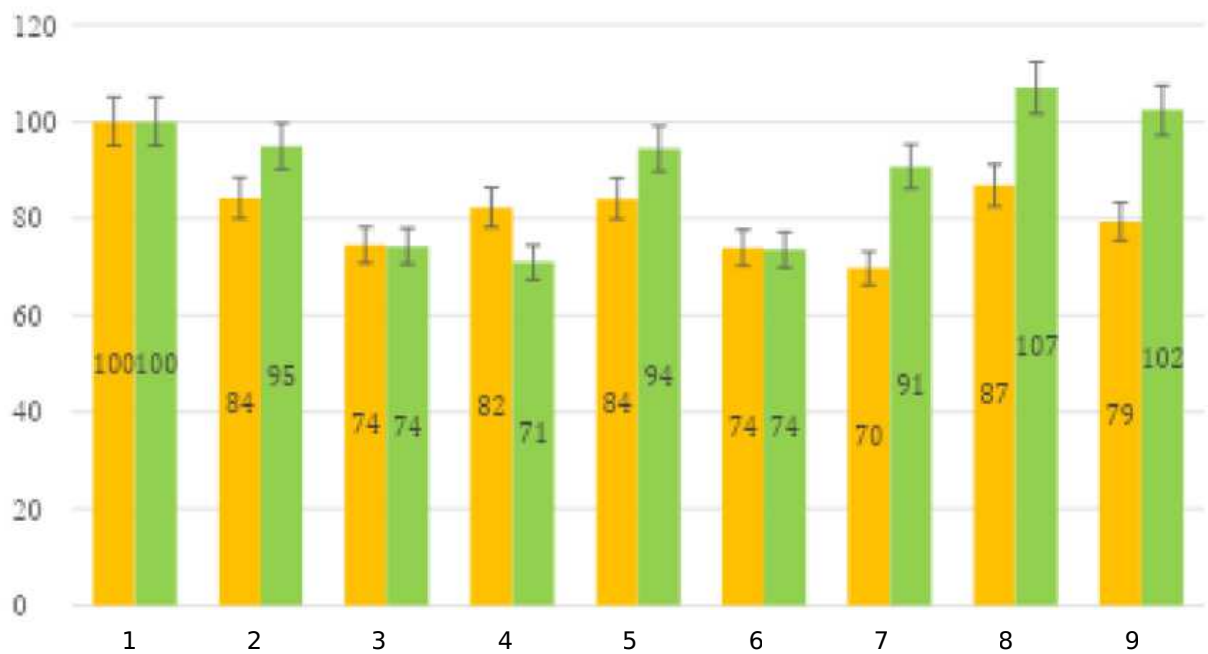
Para caracterizar la efectividad del bioestimulante con respecto a su impacto en la germinación de los cultivos, se realizaron pruebas de germinación. En la Figura 5 se muestra un ejemplo de una placa de germinación para trigo.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Figura 5. Placa de germinación con trigo germinado de la muestra de control.

La Figura 5 muestra una placa de germinación donde, después de 7 días de germinación, el trigo brotó utilizando agua desionizada. El efecto del bioestimulante sobre la germinación de la avena se muestra en la Figura 6 (longitud) y la Figura 7 (masa).

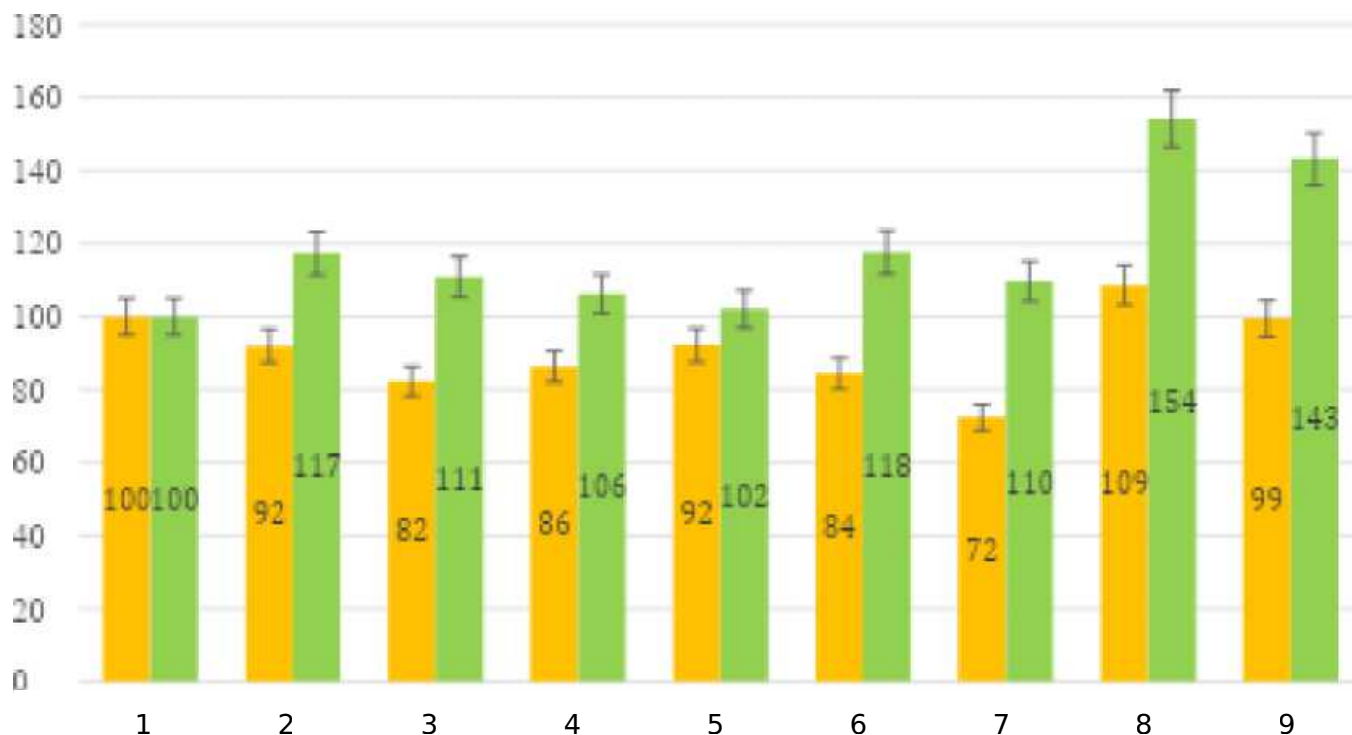


Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Amarillo: raíces. Verde: brotes. Los grupos del 1 al 9 siguen el orden de los tratamientos indicado a continuación.

Longitud de las partes de la planta respecto al control, %. Longitud de raíces. Longitud de brotes. Control; 1:500; 1:500 con pretratamiento de semillas; 1:350; 1:350 con pretratamiento; 1:200; 1:200 con pretratamiento; 1:100; 1:100 con pretratamiento.

Figura 6. Resultados de las pruebas de germinación de avena para la longitud de raíces (barras amarillas) y brotes/plántulas (barras verdes) después de 7 días, normalizada respecto al control.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Amarillo: raíces. Verde: brotes. Los grupos del 1 al 9 siguen el orden de los tratamientos indicado a continuación.

Masa de las partes de la planta respecto al control, %. Masa de raíces. Masa de brotes. Control; 1:500; 1:500 con pretratamiento de semillas; 1:350; 1:350 con pretratamiento; 1:200; 1:200 con pretratamiento; 1:100; 1:100 con pretratamiento.

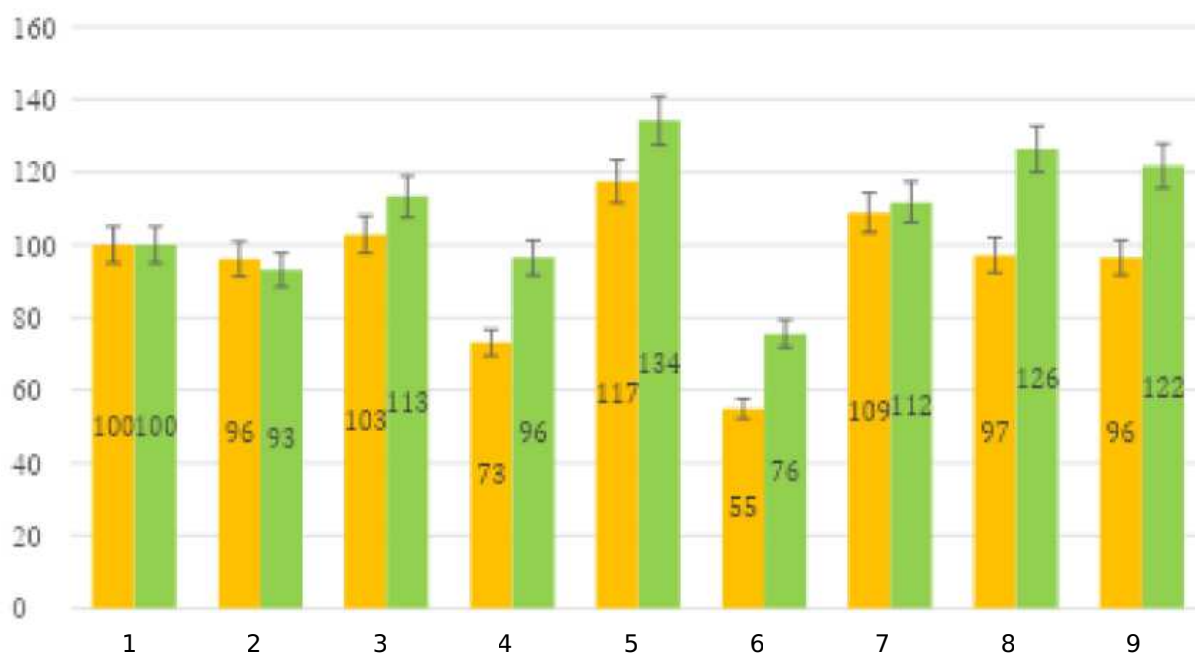
Figura 7. Resultados de las pruebas de germinación de avena para la masa de raíces (barras amarillas) y brotes/plántulas (barras verdes) después de 7 días, normalizada respecto al control.

La Figura 6 muestra el resultado de las pruebas de germinación de avena para la longitud de la parte de la planta, normalizada al control donde la avena fue germinada utilizando agua desionizada. Los resultados indican que cuando se utiliza el bioestimulante en diluciones de 1:500, 1:350 y 1:200, tanto las semillas grabadas como las no grabadas exhiben un menor rendimiento de germinación tanto para la longitud de la raíz como para la longitud del brote. Para la dilución 1:100, las semillas no grabadas y grabadas mostraron un mayor rendimiento en la longitud de brote (+7% y +2%, respectivamente), pero la longitud de raíz todavía se redujo.

La Figura 7 muestra el resultado de la prueba de germinación de avena para la masa de la parte vegetal, normalizada al control donde la avena fue germinada utilizando agua desionizada. Se observó que el grabado de semillas afecta positivamente la masa real de brotes versus el control en todas las diluciones de bioestimulante, especialmente a 1:100 para semillas no grabadas y grabadas (+54% y +43%, respectivamente). Sin embargo, la masa radicular se reduce en casi

todos los ensayos, excepto en la dilución 1:100 con semillas no grabadas, que mostró un aumento de +9% en masa. Cabe señalar que, con respecto a la masa de brotes, el grabado de semillas tiene un efecto negativo en comparación con las semillas no grabadas (una disminución del 4-11%).

Con base en los resultados de las pruebas de germinación de avena, se concluyó que para estudios posteriores solo se utilizará la masa de raíz y brote, ya que representa con mayor precisión el rendimiento de germinación. Los resultados de las pruebas de trigo duro se muestran en la Figura 8.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Amarillo: raíces. Verde: brotes. Los grupos del 1 al 9 siguen el orden de los tratamientos indicado a continuación.

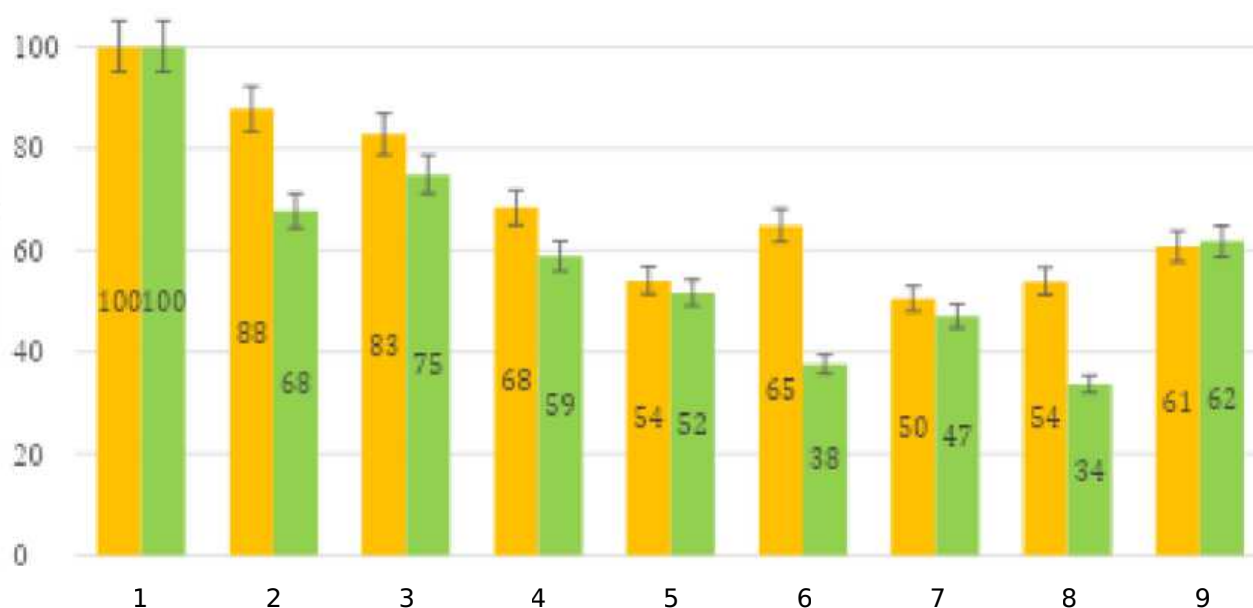
Masa de las partes de la planta respecto al control, %. Masa de raíces. Masa de brotes. Control; 1:500; 1:500 con pretratamiento de semillas; 1:350; 1:350 con pretratamiento; 1:200; 1:200 con pretratamiento; 1:100; 1:100 con pretratamiento.

Figura 8. Resultados de las pruebas de germinación de trigo duro para la masa de raíces (barras amarillas) y brotes/plántulas (barras verdes) después de 7 días, normalizada respecto al control.

En el ensayo de germinación de trigo duro (Figura 8), se observa que para semillas no grabadas el bioestimulante aumenta mejor la masa de brotes en una dilución de 1:100 (+26%), mientras que 1:500 da una ligera disminución (-7%), y 1:350 y especialmente 1:200 provocan una pronunciada disminución de masa (-4% y -24%, respectivamente). Al mismo tiempo, la masa radicular de las semillas no grabadas disminuye en su mayoría, con una caída muy significativa en 1:350 (-27%) y 1:200 (-45%), mientras que 1:500 y 1:100 están cerca del control (-4% y -3%). En general, el grabado mejora los resultados porque la masa del brote es mayor que el control en todas las

diluciones (1:500 grabado +13%; 1:350 grabado +34%; 1:200 grabado +12%; 1:100 grabado +22%). La masa radicular también se vuelve más alta que el control a 1:500, 1:350 y 1:200 (+3%, +17% y +9%, respectivamente), aunque a 1:100 el grabado reduce ligeramente la masa radicular. Comparando semillas grabadas con semillas no grabadas, el grabado proporciona un efecto positivo en diluciones de 1:500-1:200, mientras que se observa una ligera disminución en 1:100, lo que puede indicar que a concentraciones más altas el grabado ya no proporciona beneficios adicionales.

Finalmente, se realizaron pruebas de germinación para guisantes, y los resultados de las pruebas de germinación para masas de partes de plantas de guisantes se muestran en la Figura 9.



Se conservan los gráficos experimentales originales. Los rótulos se traducen en el texto que los acompaña.

Amarillo: raíces. Verde: brotes. Los grupos del 1 al 9 siguen el orden de los tratamientos indicado a continuación.

Masa de las partes de la planta respecto al control, %. Masa de raíces. Masa de brotes. Control; 1:500; 1:500 con pretratamiento de semillas; 1:350; 1:350 con pretratamiento; 1:200; 1:200 con pretratamiento; 1:100; 1:100 con pretratamiento.

Figura 9. Resultados de las pruebas de germinación de guisante para la masa de raíces (barras amarillas) y brotes/plántulas (barras verdes) después de 7 días, normalizada respecto al control.

En el ensayo de germinación de guisantes, el cuadro general es inequívoco: el bioestimulante reduce la masa de raíz y brote en comparación con el control en todas las diluciones, y la reducción más pronunciada se observa en la masa de brote a medida que la solución se concentra más. Para las semillas no grabadas, en la solución más diluida (1:500) la caída es más moderada, pero al pasar a soluciones más concentradas el efecto se intensifica—en 1:200 y especialmente 1:100, la masa de brote disminuye más fuertemente (a aproximadamente un tercio del control). En general, el grabado no proporciona una mejora estable. En algunas diluciones incluso empeora la masa de

raíz (por ejemplo, 1:350), sin embargo, en el caso de 1:100 el ácido afecta sustancialmente la masa de brote, porque la masa de brote aumenta del 34% al 62% (de $\sim 1/3$ a $\sim 2/3$ del control). Por lo tanto, para los guisantes en este ensayo el bioestimulante actúa predominantemente inhibitorio.

Después de las pruebas de germinación, está claro que el prototipo de bioestimulante tiene un efecto desfavorable en los guisantes, y posiblemente también en otras legumbres, mientras que para los cereales se observó un efecto positivo significativo: para el trigo duro a una dilución de 1:350 con semillas grabadas, con un aumento de la masa de raíz de +17% y un aumento de la masa de brote de +34%; y para la avena a una dilución de 1:100 con semillas no grabadas, con un aumento de la masa de raíz de +9% y un aumento de la masa de brote de +54%.