



Germination and emergence of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini' seeds treated with chitosan

Germinación y emergencia de semillas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini' tratadas con quitosano

© Emilio R. Morales-Maldonado¹; © Mónica Gutiérrez-Rojas²; © Bernardo Murillo-Amador³; © Betzabe E. López-Corona⁴; © Netzahualcoyotl Mayek-Pérez⁵; © Daniel Ruiz-Juárez^{2*}

¹Instituto Tecnológico Superior de Huichapan. Domicilio conocido s/n, El Saucillo. C. P. 42400 Huichapan, Hidalgo, México.

²Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Producción Agrícola y Animal. Calzada del Hueso 1100, colonia Villa Quietud. C. P. 04960. Alcaldía Coyoacán, Ciudad de México, México.

³Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Av. Instituto Politécnico Nacional núm. 195, colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. C. P. 23096. La Paz, Baja California Sur, México.

⁴Universidad de Sonora, Departamento de Investigación y Postgrado en Alimentos. Bulevar Luis Encinas y Rosales s/n, colonia Centro. C. P. 83000. Hermosillo, Sonora, México.

⁵Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica. Bulevar del Maestro s/n, esquina Elías Piña, colonia Narciso Mendoza. C. P. 88710. Reynosa, Tamaulipas, México.

*Corresponding author: druiz@correo.xoc.uam.mx

Abstract

Introduction. Physical, mechanical, and hormonal methods used to enhance germination can, in some cases, cause physiological damage to the seed and endosperm. Chitosan has been used as a germination stimulant in other species; however, its effect has not been evaluated in agave seeds.

Objective. To evaluate the effect of chitosan concentrations on the germination and emergence of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini'.

Materials and methods. Treatments consisted of five chitosan concentrations (0.2, 0.5, 0.7, 1.0 and 3.0 g·L⁻¹) and a control (distilled water), arranged in a completely randomized design with four replicates; each experimental unit consisted of 100 seeds. Germination percentages, germination speed index, mean germination time, and emergence percentage and rate were evaluated at 24 h intervals.

Results. Significant differences among treatments were observed for all measured variables ($P \leq 0.0001$). Germination of *A. salmiana* 'Xamini' reached 80 % and 74 % at chitosan concentrations of 0.2 and 0.5 g·L⁻¹, respectively. The optimal dose for both the germination speed index and emergence rate was 0.2 g·L⁻¹. These lower chitosan concentrations improved germination compared to higher doses (1 and 3 g·L⁻¹), which showed the lowest mean values, similar to the control.

Conclusion. The use of chitosan at a concentration of 0.2 g·L⁻¹ represents a natural alternative, free of toxic residues, to enhance the germination and emergence of *A. salmiana* 'Xamini'.

Keywords: Biostimulants, agave, morphometry, germination rate, emergence rate.

Resumen

Introducción. Los métodos físicos, mecánicos y hormonales para incrementar la germinación, en ocasiones, dañan fisiológicamente la semilla y endospermo. El quitosano se ha utilizado como estimulante para la germinación de semillas en otras especies, pero su efecto no se ha evaluado en semillas de agave.

Objetivo. Evaluar el efecto de concentraciones de quitosano en la germinación y emergencia de semillas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini'.

Materiales y métodos. Los tratamientos fueron cinco concentraciones de quitosano (0.2, 0.5, 0.7, 1.0 y 3.0 g·L⁻¹) y un testigo (agua destilada) en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones; la unidad experimental se formó por 100 semillas. Se evaluó el porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, tiempo medio de germinación, porcentaje y tasa de emergencia en intervalos de 24 h.

Resultados. Existen diferencias significativas entre efectos de tratamientos ($P \leq 0.0001$) para las variables medidas. La germinación de *A. salmiana* 'Xamini' con 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ de quitosano fue de 80 y 74 %, respectivamente. Estas dosis bajas de quitosano ofrecieron mejoras en la germinación en comparación con las dosis altas (1 y 3 g·L⁻¹) que mostraron los promedios más bajos al igual que el testigo.

Conclusión. La aplicación de quitosano en concentración de 0.2 g·L⁻¹ es una alternativa natural, libre del suministro de residuos tóxicos, para incrementar la germinación y emergencia de semillas de *A. salmiana* 'Xamini'.

Palabras clave: Biostimulantes, maguey, morfometría, velocidad de germinación, tasa de emergencia.

Please cite this article as follows (APA 7): Morales-Maldonado, E. R., Gutiérrez-Rojas, M., Murillo-Amador, F., López-Corona, B. E., Mayek-Pérez, N., & Ruiz-Juárez, D. (2026). Germination and emergence of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini' seeds treated with chitosan. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 32, e25037. <http://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2025.10.037>



Introduction

The genus *Agave* comprises approximately 200 species; in Mexico, most are distributed across the states of Hidalgo, Tlaxcala, Estado de Mexico, Puebla and San Luis Potosí (Castillo-Quiroz et al. 2020). Agave or maguey is emblematic of traditional Mexican culture and is closely associated with medicine, agroindustry, and gastronomy (García-Mendoza & Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO], 2021).

The predominance of vegetative propagation systems in agave (offsets and *in vitro* culture) leads to a significant reduction in genetic variability and increases susceptibility to pests and diseases. It also entails physiological effects that are reflected in the morphometry and functioning of botanical structures, driven by abiotic factors (Enríquez-del Valle et al., 2023). In this context, seed propagation represents an alternative approach for obtaining plants with superior traits that enhance the species' adaptation to both biotic and abiotic factors in each region (Riseh et al., 2024).

Germination and emergence are associated with seed starch reserves and constitute part of the species' strategy to ensure seed survival and persistence (Fajinmi et al., 2021). Germination is inhibited when seeds are exposed to high concentrations of abscisic acid, phenolic compounds, and coumarin, or when the seed coat is impermeable to gases and water (Pham et al., 2019). Methods to enhance germination and emergence include soaking seeds in potable water, mechanical scarification, and soaking in gibberellic acid (GA_3) (Makhaye et al., 2021). However, these methods may, in some cases, cause physical damage to the seed and even alter the biological processes underlying radicle emergence and plumule development (Gutiérrez-Hernández et al., 2020).

Biostimulants or microbial consortia represents an alternative for enhancing plant growth and development, including photosynthetic performance, mitigation of abiotic stress, and nutrient uptake and assimilation (Ahmed et al., 2020). One of these biostimulants is chitosan, the deacetylated form of chitin and one of the most abundant waste-derived biomaterials, primarily obtained from the exoskeletons of insects and crustaceans (Mirbolook et al., 2021).

The use of chitosan is associated with low environmental impact agriculture and has been shown to be compatible with both external and internal cellular tissues of cultivated species (Chagas et al., 2022). According to Riseh et al. (2024), research on chitosan and its effects on cultivated species remains active, with assessments conducted at the levels of soil, radicle, stem, foliage,

Introducción

El género *Agave* incluye 200 especies; en México, la mayoría se distribuye en Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México, Puebla y San Luis Potosí (Castillo-Quiroz et al. 2020). El agave o maguey es representativo de la cultura tradicional mexicana y está asociado con la medicina, agroindustria y gastronomía (García-Mendoza & Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO], 2021).

La predominancia de los sistemas de producción vegetativa del maguey (hijuelos y cultivo *in vitro*) propician una reducción significativa en la variabilidad genética, la susceptibilidad al ataque de plagas y enfermedades, además de los efectos fisiológicos que destacan en la morfometría y funcionamiento de las estructuras botánicas causados por factores abióticos (Enríquez-del Valle et al., 2023). En este sentido, la propagación por semilla es una alternativa para la obtención de plantas con características sobresalientes que permitan incrementar la adaptación a factores bióticos y abióticos de la especie en cada región (Riseh et al., 2024).

La germinación y emergencia se relacionan con el contenido de reservas de almidón y son parte de la estrategia de las especies para que las semillas sobrevivan y persistan (Fajinmi et al., 2021). La germinación se interrumpe cuando las semillas se someten a concentraciones altas de ácido abscísico, fenol y cumarina o cuando la cubierta seminal es impermeable a los gases y el agua (Pham et al., 2019). Los métodos para incrementar la germinación y emergencia se basan en el remojo de las semillas en agua potable, la escarificación mecánica y el remojo en ácido giberélico (GA_3) (Makhaye et al., 2021). Dichos métodos, en ocasiones, causan daños físicos a la semilla, incluso alteran el comportamiento biológico de emergencia radicular y el desarrollo de la plúmula (Gutiérrez-Hernández et al., 2020).

Los bioestimulantes o mezclas de microorganismos son una alternativa para mejorar el crecimiento y desarrollo de la planta, incluyendo aspectos fotosintéticos, mitigación de estrés abiótico, absorción y asimilación de nutrientes (Ahmed et al., 2020). Uno de estos bioestimulantes es el quitosano, forma desacetilada de la quitina y material de desecho más abundante que proviene principalmente de los exoesqueletos de insectos y crustáceos (Mirbolook et al., 2021).

El uso del quitosano se asocia con la agricultura de bajo impacto ambiental y se ha demostrado que es compatible con el tejido celular externo e interno de especies cultivadas (Chagas et al., 2022). De acuerdo con Riseh et al. (2024), el estudio del quitosano y sus efectos en especies cultivadas permanece constante con evaluaciones a nivel del suelo, radícula, tallo,

flower, fruit, and seed. Chitosan is applied as a biostimulant, resistance inducer, biocide, antimicrobial agent, fungicide, nematicide, and bactericide (Chagas et al., 2022). Studies have demonstrated that seeds coated with chitosan show increased germination rates, as well as enhanced growth and vegetative development (Pincay-Manzaba et al., 2021). Chitosan also promotes the activity of plant hormones and nutrient dynamics, reserves degradation processes, and stimulates germination in less than 24 h (El Amerany et al., 2020). In the case of agave, research on the use of chitosan remains scarce, particularly regarding the agronomic management of seed germination and seedling emergence. This approach could accelerate these processes while preserving the genetic characteristics of the species. In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of chitosan concentrations on the germination and emergence of seeds of *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini'.

Materials and methods

Experimental site

The study was carried out during the 2024 spring-summer and fall-winter growing seasons at the Agricultural Experimental Unit of the Instituto Tecnológico Superior de Huichapan in El Saucillo, Huichapan, Hidalgo, Mexico. The study site is situated at 20° 19' 09" N and 99° 42' 29" W, at an elevation of 2172 m above sea level. The mean annual temperature is 15.9 ± 2 °C with an annual precipitation of 520.5 mm. The soils are classified as Haplic Phaeozems, characterized by a dark surface horizon, a C/N ratio of 10-12, and a pH ranging from 5 to 7 (IUSS Working Group WRB, 2015).

Genetic material

Seeds of *A. salmiana* 'Xamini' were collected in El Cardonal del Valle del Mezquital, Hidalgo, Mexico (20° 32' 41" N y 99° 04' 08" W; 2172 m). The seed lot was validated for genetic, physiological, and physical quality, as well as varietal purity, in accordance with the seed collection program of the Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Hidalgo. The genetic material was botanically described by following Vázquez-Díaz et al. (2011). From 1 kg of *A. salmiana* 'Xamini' seed, a total of 2400 seeds were randomly selected and divided into four lots of 100 seeds each, where each lot represented an experimental unit. The botanical structures of the seeds were weighed before and after treatment using an analytical balance (Citizen CY204®, Citizen Systems, UK). Seed length and width were measured with a Mitutoyo® digital caliper (Mitutoyo Mexicana, Naucalpan, Estado de México). The seeds were labeled and stored at 4 °C in a Criotec CFX-19 refrigeration unit (Mexico) until analysis.

follaje, flor, fruto y semilla. El quitosano se aplica como bioestimulante, inductor de resistencia, biocida, antimicrobiano, fungicida, nematicida y bactericida (Chagas et al., 2022). Los estudios demuestran que las semillas recubiertas con quitosano incrementan la tasa de germinación, el crecimiento y el desarrollo vegetativo (Pincay-Manzaba et al., 2021). El quitosano también promueve la actividad de hormonas vegetales y nutrientes, reinvierte procesos de degradación y fomenta la germinación en menos de 24 h (El Amerany et al., 2020). En el caso del agave, la investigación sobre el uso de quitosano es nula, específicamente en el manejo agronómico de la germinación de semillas y emergencia de plántulas, lo que podría acelerar estos procesos y conservar las características genéticas de la especie. En tal contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de concentraciones de quitosano en la germinación y emergencia de semillas de *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck 'Xamini'.

Materiales y métodos

Sitio experimental

El estudio se realizó durante los ciclos agrícolas primavera-verano y otoño-invierno del 2024 en la Unidad Experimental Agrícola del Instituto Tecnológico Superior de Huichapan en El Saucillo, Huichapan, Hidalgo, México. El sitio de estudio se localiza a los 20° 19' 09" LN y 99° 42' 29" LO, a 2172 m de elevación. La temperatura promedio anual es de 15.9 ± 2 °C con precipitación anual de 520.5 mm. Los suelos son de tipo Feozem háplico con horizonte superficial de color oscuro, relación C/N de 10-12 y pH de 5 a 7 (IUSS Working Group WRB, 2015).

Material genético

Las semillas de *A. salmiana* 'Xamini' se recolectaron en El Cardonal del Valle del Mezquital, Hidalgo, México (20° 32' 41" LN y 99° 04' 08" LO, a 2172 m de elevación). El lote de calidad genética, fisiológica, física y pureza varietal se validó con base en el programa de colecta de semillas de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Hidalgo. El material genético se describió botánicamente de acuerdo con Vázquez-Díaz et al. (2011). A partir de 1 kg de semilla de *A. salmiana* 'Xamini', se tomaron 2400 semillas al azar y se formaron cuatro lotes de 100 semillas, donde cada lote representó la unidad experimental. Las estructuras botánicas de las semillas se pesaron antes y después del tratamiento en una balanza analítica (Citizen CY204®, Citizen Systems, Reino Unido). La longitud y el ancho de semilla se midió con vernier digital Mitutoyo® (Mitutoyo Mexicana, Naucalpan, Estado de México). Las semillas se etiquetaron y se conservaron a 4 °C en equipo de refrigeración Criotec CFX-19 (México) hasta su análisis.

Experimental design and treatments

A total of five Vepinsa® chitosan treatments (Los Mochis, Sinaloa, Mexico) were evaluated, consisting of five concentrations (0.2, 0.5, 0.7, 1.0 and 3.0 g·L⁻¹), equivalent to 6.6, 16.6, 23.3, 33.3 and 100 %, in addition to sterile distilled water as the control treatment (0.0 g·L⁻¹). Treatments were randomized under a completely randomized experimental design. The experimental unit consisted of 100 seeds with three replicates per treatment. Chitosan solutions were prepared in sterile distilled water (500 mL⁻¹) supplemented with 1 % acetic acid, and the pH was adjusted to 5.6 using KOH. Prior to treatment application, *A. salmiana* seeds were disinfected with 2 % NaClO₃ for 1 min, followed by three rinses with sterile distilled water (Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Subsequently, the seeds were placed in muslin cloth bags and immersed in the corresponding treatment solution for 72 h. Afterward, the seed were maintained under complete darkness at a constant temperature of 25 °C (Riseh et al., 2024).

Seed management

Following chitosan treatment, the seeds were sown in rigid black polypropylene trays with 50 cavities. Each tray measured 54 cm in length, 28 cm in width, and 9 cm in height, with a thickness of 1 mm, a cavity capacity of 100 cc, and a 10 mm drainage hole diameter. Prior to sowing, the trays were filled with a mixture of vermicompost and tezontle (70:30 v/v). Sowing depth was equivalent to three to five times the size of each seed. Treatments were maintained at field capacity with potable water throughout the evaluation period. The containers remained covered with 600-gauge black polyethylene film for 30 days, and temperature was maintained at 25 °C (Enríquez-del Valle et al., 2023). Evaluations were conducted at 24 h intervals for 10 days, and seedling emergence was assessed weekly for 30 days. Ambient temperature and substrate moisture were recorded at 7:00, 12:00 and 20:00 h using an Extech 445703® Digital Thermo-Hygrometer (Extech Instruments, FLIR Commercial Systems Inc., Nashua, NH 03063, USA).

Variables assessed

The evaluated variables were based on the botanical description of *A. salmiana*. Seed characterization was conducted using the external morphology of seeds treated with chitosan and water, including seed coat color, shape, contours, compressed elevations, presence of wings and margins, as well as the average seed weight, length, and width before and after treatment application (Vázquez-Díaz et al. 2011).

Germination percentage was determined at the end of the experiment according to the protocol established

Diseño experimental y tratamientos

Cinco tratamientos de quitosano Vepinsa® (Los Mochis, Sinaloa, México) se evaluaron, los cuales consistieron en cinco concentraciones (0.2, 0.5, 0.7, 1.0 y 3.0 g·L⁻¹), cuyas equivalencias corresponden a 6.6, 16.6, 23.3, 33.3 y 100 %, además de la aplicación de agua destilada estéril como control (0.0 g·L⁻¹). Los tratamientos se aleatorizaron en un diseño experimental completamente al azar. La unidad experimental consistió en 100 semillas más tres repeticiones para cada tratamiento. El quitosano se preparó en agua destilada estéril (500 mL⁻¹) más ácido acético al 1 %, con pH 5.6 ajustado con KOH. Previa a la aplicación de los tratamientos, las semillas de *A. salmiana* se lavaron con NaClO₃ al 2 % durante un minuto, más tres enjuagues con agua destilada estéril (Gutiérrez-Hernández et al., 2020). Posteriormente, las semillas se colocaron en tela de manta y se sumergieron en el tratamiento correspondiente durante 72 h, enseguida se colocaron en oscuridad total y con temperatura constante de 25 °C (Riseh et al., 2024).

Manejo de semillas

Posterior al tratamiento con quitosano, las semillas se colocaron en charolas de polipropileno rígido negro de 50 cavidades. Cada charola mide 54 cm de largo, 28 cm de ancho y 9 cm de alto, así como 1 mm de espesor, con capacidad de 100 cc por cavidad y 10 mm de diámetro de orificio de salida de agua. Previamente, las charolas se rellenaron con una mezcla de humus de lombriz y tezontle (70:30 volumen/volumen). La profundidad de siembra fue de tres a cinco veces el tamaño de cada semilla. Los tratamientos se mantuvieron a capacidad de campo con agua potable hasta el final de la evaluación. Los contenedores permanecieron cubiertos con poliestireno negro calibre 600 durante 30 días y la temperatura se mantuvo a 25 °C (Enríquez-del Valle et al., 2023). Las evaluaciones se hicieron en intervalos de 24 horas por 10 días y la emergencia de plántulas se evaluó cada semana durante 30 días. La temperatura ambiental y humedad de los sustratos se registraron a las 7:00, 12:00 y 20:00 horas con un termómetro higrómetro digital Extech 445703® (Extech Instruments, FLIR Commercial Systems Inc., Nashua, NH 03063, EUA).

Variables evaluadas

Las variables se evaluaron con base en la descripción botánica de semillas de *A. salmiana*. La descripción se hizo a partir de la parte externa de las semillas tratadas con quitosano y agua, donde se detalló el color de testa, forma, contornos, elevaciones comprimidas, presencia de alas y márgenes, además del peso promedio de cada semilla, longitud y anchura promedio antes y después del tratamiento (Vázquez-Díaz et al. 2011).

by the International Seed Testing Association (ISTA, 2016). The germination speed index (GSI) (germinated seeds·day⁻¹) was calculated using the following formula:

$$GSI = \sum_{n=1}^n \frac{Gi}{Ni}$$

where,

Gi = number of germinated seeds

Ni = number of days to germination.

The mean germination time (MGT) indicates the time (D) required to reach 50 % germination of the population and was calculated using the following formula:

$$MGT = \frac{\sum D * n}{\sum nt}$$

where,

D = number of days recorded from the onset of germination

n = number of seeds germinated on day D

nt = total number of seeds sown.

Emergence percentage (EP) was determined when the hypocotyl reached one to three times the size of the seed and emerged above the substrate surface. This variable was calculated using the following formula:

$$EP = \frac{Npe * 100}{Nts}$$

where,

Npe = number of seeds

Nts = total number of seeds.

Finally, the emergence rate (ER) was calculated using the following equation:

$$ER = \frac{n_1}{t_1} + \frac{n_2}{t_2} + \dots + \frac{n_{400}}{t_{40}}$$

where,

n_1, n_2, \dots, n_{400} = number of emerged seedlings

t_1, t_2, \dots, t_{40} = emergence time (days).

Statistical analysis

The data were verified for compliance with the assumptions of parametric tests. Data normality was assessed using the Shapiro-Wilk. Treatment means were compared using one-way ANOVA, and differences among means were determined with the Tukey-Kramer test ($P \leq 0.05$) for multiple pairwise comparisons. Variables expressed as percentages were transformed using the arcsine square-root transformation. Statistical analyses were performed using JMP version 16 (JMP Statistical Discovery LLC., 2026).

El porcentaje de germinación se determinó al final del experimento con base en el protocolo del International Seed Testing Association (ISTA, 2016). El índice de velocidad de germinación (IVG) (semillas germinadas·día⁻¹) se obtuvo con la fórmula:

$$IVG = \sum_{n=1}^n \frac{Gi}{Ni}$$

donde,

Gi = número de semillas germinadas

Ni = cantidad de días en que germinaron.

El tiempo medio de germinación (TMG) indica el tiempo (D) en el que se obtiene 50 % de germinación de la población y se calculó con la fórmula:

$$TMG = \frac{\sum D * n}{\sum nt}$$

donde,

D = número de días registrados a partir del inicio de la germinación

n = número de semillas germinadas en el día D

nt = número total de semillas sembradas.

El porcentaje de emergencia (PE) se determinó cuando el hipocótilo alcanzó de uno a tres veces el tamaño de la semilla y se elevó sobre la superficie del sustrato. Esta variable se calculó con la fórmula:

$$PE = \frac{Npe * 100}{Nts}$$

donde,

Npe = número de semillas

Nts = número total de semillas.

Finalmente, la tasa de emergencia (TE) se calculó con la ecuación:

$$TE = \frac{n_1}{t_1} + \frac{n_2}{t_2} + \dots + \frac{n_{400}}{t_{40}}$$

donde,

n_1, n_2, \dots, n_{400} = número de plántulas emergidas

t_1, t_2, \dots, t_{40} = tiempo de emergencia (días).

Análisis estadístico

Los datos se verificaron con los supuestos de las pruebas paramétricas. La normalidad de los datos se comprobó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las medias de los tratamientos se compararon con análisis de varianza de una vía (ANOVA) y las diferencias entre estas se determinaron con la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$) para comparaciones múltiples pareadas. Las variables que se expresaron en porcentaje se transformaron utilizando la raíz cuadrada de arcoseno. El análisis estadístico se hizo con el *software* JMP versión 16 (JMP Statistical Discovery LLC., 2026).

Results and Discussion

Botanical structures

A. salmiana seeds treated with chitosan were slightly flattened with obovate contours and showed a black seed coat and teardrop-shaped to ovoid, lenticular, and slightly compressed forms, with narrow wings and keeled, furrowed margins. Under 7x magnification, intense brightness and a convex dorsal surface were observed (Figure 1). The average seed weight was 10 ± 0.3 mg, with an average length of 7.9 ± 0.2 mm and an average width of 5.8 ± 0.4 mm, whereas control seeds showed lower average values. These characteristics are consistent with the descriptions reported by Villanueva-Castillo et al. (2021) for seeds of *A. angustifolia* Haw., *A. karwinskii* Zucc., *A. potatorum* Zucc. and *A. rhodacantha* Trel.

Germination and emergence

Table 1 shows the mean values of the evaluated variables. Germination percentage, germination speed index, mean germination time, emergence percentage, and emergence rate showed significant differences

Resultados y discusión

Estructuras botánicas

Las semillas de *A. salmiana* tratadas con quitosano fueron ligeramente planas con los contornos obovados, presentaron testa negra y formas de lágrima u ovoides, lenticulares y ligeramente comprimidas, con ala angosta, márgenes aquillados y surcados. Al observarlas bajo un aumento 7x se distinguió brillo intenso y el lado dorsal convexo (Figura 1). El peso promedio de cada semilla fue 10 ± 0.3 mg con longitud promedio de 7.9 ± 0.2 mm y ancho promedio de 5.8 ± 0.4 mm, a diferencia de las semillas testigo que presentaron indicadores promedios más bajos. Estas características son similares con la descripción que Villanueva-Castillo et al. (2021) hicieron en semillas de *A. angustifolia* Haw., *A. karwinskii* Zucc., *A. potatorum* Zucc. y *A. rhodacantha* Trel.

Germinación y emergencia

El Cuadro 1 presenta los valores promedio de las variables evaluadas. El porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, tiempo medio

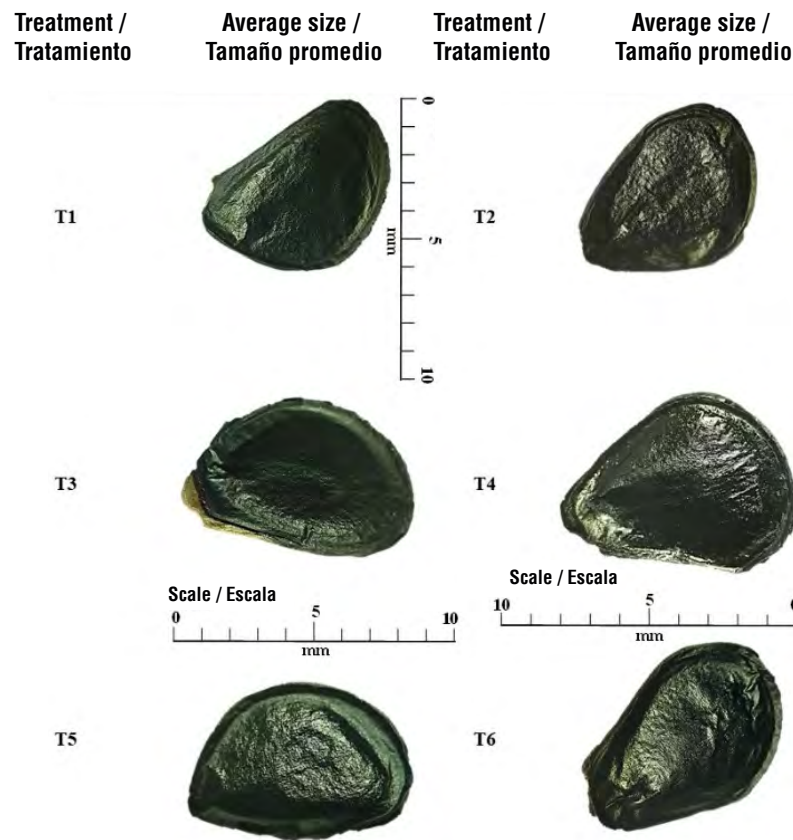


Figure 1. Morphometric characteristics of *Agave salmiana* 'Xamini' seeds treated with different chitosan concentrations (T1 = 0.0 g·L⁻¹, T2 = 0.2 g·L⁻¹, T3 = 0.5 g·L⁻¹, T4 = 0.7 g·L⁻¹, T5 = 1.0 g·L⁻¹ and T6 = 3.0 g·L⁻¹).

Figura 1. Características morfométricas de semillas de *Agave salmiana* 'Xamini' tratadas con diferentes concentraciones de quitosano (T1 = 0.0 g·L⁻¹, T2 = 0.2 g·L⁻¹, T3 = 0.5 g·L⁻¹, T4 = 0.7 g·L⁻¹, T5 = 1.0 g·L⁻¹ y T6 = 3.0 g·L⁻¹).

Table 1. Effect of chitosan concentrations on germination and emergence of *Agave salmiana* 'Xamini'.**Cuadro 1. Efecto de las concentraciones de quitosano en la germinación y emergencia de semillas de *Agave salmiana* 'Xamini'.**

Chitosan (g·L ⁻¹)/ Quitosano (g·L ⁻¹)	GP (%)/ PG (%)	GSI (seed·day ⁻¹)/ IVG (semilla·día ⁻¹)	MGT (days)/ TMG (días)	EP (%)/ PE (%)	ER (seedling·day ⁻¹)/ TE (plántula·día ⁻¹)
0	30.00 ± 3.55 c	0.25 ± 0.03 d	1.83 ± 0.20 d	30.00 ± 3.55 c	5.21 ± 0.66 e
0.2	80.00 ± 4.96 a	0.67 ± 0.04 a	5.09 ± 0.34 a	80.00 ± 4.96 a	13.24 ± 0.79 a
0.5	74.00 ± 2.94 ab	0.62 ± 0.02 a	4.76 ± 0.18 a	74.00 ± 2.94 ab	12.06 ± 0.49 b
0.7	65.00 ± 1.41 b	0.54 ± 0.01 b	4.14 ± 0.06 b	65.00 ± 1.41 b	10.76 ± 0.34 c
1.0	47.00 ± 9.25 c	0.44 ± 0.02 c	3.37 ± 0.15 c	47.00 ± 9.25 c	8.41 ± 0.33 d
3.0	48.00 ± 0.81 c	0.40 ± 0.01 c	3.06 ± 0.07 c	48.00 ± 0.81 c	7.92 ± 0.15 d

GP: germination percentage, GSI: germination speed index, TMG: mean germination time, EP: emergence percentage, ER: emergence rate. In the columns, means (\pm standard deviation) followed by different letter are significantly different according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

PG: porcentaje de germinación, IVG: índice de velocidad de germinación, TMG: tiempo medio de germinación, PE: porcentaje de emergencia, TE: tasa de emergencia. En las columnas, las medias (\pm desviación estándar) con diferente literal son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

($P \leq 0.05$) among chitosan treatments and relative to the control. The highest average germination percentage was obtained in seeds treated with 0.2 g·L⁻¹ chitosan (80 %), while untreated seeds had the lowest values (30 %). GSI showed the highest mean values in seeds treated with 0.2 and 0.5 g·L⁻¹ chitosan, while the lowest GSI was recorded in untreated seeds (0.25 seeds·day⁻¹).

Seeds treated with 0.2 and 0.5 g·L⁻¹ chitosan showed higher MGT values (5.09 and 4.76 days, respectively) compared with seeds without chitosan (1.83 days). Finally, emergence percentage also showed the highest values with the application of 0.2 and 0.5 g·L⁻¹ chitosan (80 and 74 %, respectively); however, the emergence rate was higher in seeds treated with 0.2 g·L⁻¹ chitosan (13.24 seedlings·day⁻¹), while seeds from the control treatment showed 30 % emergence with a rate of 5.21 seeds·day⁻¹.

In this study, chitosan increased the germination percentage of *A. salmiana* seeds, as well as seedling emergence. These effects are consistent with those reported by Peña-Datoli et al. (2016), who stated that chitosan coating, due to its biodegradable and physicochemical properties as a hydrophilic polysaccharide, promotes the activity of plant hormones and nutrients, the redistribution of reserves during degradation processes, and seed germination in cultivated species (Pincay-Manzaba et al., 2021). Similarly, Jasso-de Rodríguez et al. (2024) highlighted that chitosan stimulates root growth and seedling development, in addition to exhibiting bactericidal, fungicidal, and antiviral effects. In this context, agave producers in Valle del Mezquital, Hidalgo, Mexico, could improve plant health and quality during the early stages of development by establishing production units or perimeter fences using offshoots from mother plants. Likewise, producers could collect seeds and establish seedbeds without concern for potential physical or phytosanitary damage that may alter germination, root development, growth, or induce cellular, and vascular

de germinación, porcentaje de emergencia y tasa de emergencia mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos de quitosano y respecto al testigo. El porcentaje de germinación promedio más alto se obtuvo en las semillas que recibieron 0.2 g·L⁻¹ de quitosano (80 %), mientras que las semillas sin quitosano presentaron el más bajo (30 %). El IVG presentó los mayores promedios en las semillas tratadas con 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ de quitosano y el IVG menor se registró en las semillas sin tratamiento (0.25 semillas·día⁻¹).

Las semillas sometidas a 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ de quitosano presentaron un TMG mayor (5.09 y 4.76 días, respectivamente) respecto a las semillas que no recibieron quitosano (1.83 días). Finalmente, el porcentaje de emergencia también mostró los valores superiores cuando se aplicaron 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ de quitosano (80 y 74 %, respectivamente); sin embargo, la tasa de emergencia fue mayor en las semillas tratadas con 0.2 g·L⁻¹ de quitosano (13.24 plántulas·día⁻¹), mientras que las semillas del tratamiento testigo presentaron 30 % de emergencia con una tasa de 5.21 plántulas·día⁻¹.

En este estudio, el quitosano incrementó el porcentaje de germinación de semillas de *A. salmiana*, así como de emergencia de plántulas. Estos efectos coinciden con lo reportado por Peña-Datoli et al. (2016), quienes afirman que el recubrimiento con quitosano, por sus propiedades biodegradables y fisicoquímicas como polisacárido hidrofílico, promueve la actividad de hormonas vegetales y nutrientes, la reinversión en procesos de degradación y la germinación en las semillas de especies cultivadas (Pincay-Manzaba et al., 2021). Por su parte, Jasso-de Rodríguez et al. (2024) destacan que el quitosano estimula el crecimiento radicular y el desarrollo de la plántula, además de que tiene efectos bactericidas, fungicidas y antivirales. En este contexto, los productores del Valle del Mezquital del Estado de Hidalgo, México podrían beneficiar la salud y calidad de la planta de agave durante las primeras etapas de desarrollo agrícola, si establecen unidades de producción o cercos perimetrales con

malformations, which may eventually become evident in external structures (El Amerany et al., 2020).

The germination and emergence percentages of *A. salmiana* indicated that seed viability and physiological quality were favorable when seeds were treated with chitosan at 0.2 and 0.5 g·L⁻¹. Peña-Datoli et al. (2016) mentioned that emergence depends on the physiological and biochemical responses of the seed, as well as on biotic and abiotic conditions. In the present study, it is inferred that water combined with chitosan activated the respiratory process of the seed structure and increased germination speed. During the germination process of *A. salmiana* seeds, imbibition is essential for water absorption. According to Pincay-Manzaba et al. (2021), the imbibition process allows seeds to reach similar moisture levels in a shorter period, thereby activating the metabolism associated with the pregerminative process. Costales-Menéndez et al. (2020) reported that in conventional agricultural crops such as tomato and soybean, respiration can be detected in minutes, and the germination and seedlings emergence processes are accelerated compared with agave seeds, in which the process may require several hours (Sánchez-Salas et al., 2017). Likewise, Gutiérrez-Hernández et al. (2020) indicated that chitosan stimulated germination and respiration processes and reduced water loss through transpiration in *A. potatorum* Zucc.

Based on their botanical, morphological, and anatomical structures, the semiplane lacrimiform shape of agave seeds provides buoyancy. In addition, they present a porous seed coat with a hypodermis surrounded by air chambers. According to Villanueva-Castillo et al. (2021), these characteristics facilitate permeability and water uptake during short flooding periods and promote germination; that is, once water is absorbed, the respiratory process begins, cell division is activated at the organelle level, and protein synthesis is initiated, leading to the formation of new cells and mitochondria (Cruz-Vasconcelos et al., 2020). In the final stage, the seed completes germination and emergence, culminating in seedling development. Jasso-de Rodríguez et al. (2024) reported that tomato seeds imbibed with chitosan can stimulate the activity of ACC synthase, which is involved in ethylene synthesis, thereby promoting root and shoot growth in seedlings.

With the application of 0.2 and 0.5 g·L⁻¹ chitosan, emergence of *A. salmiana* reached 80 and 74 %, respectively, values that differ from those reported by Reyes-Pérez et al. (2020), who observed emergence ranging 55 to 91 % in tomato seeds, but using higher chitosan concentrations (2 g·L⁻¹). However, results are not always favorable; in the case of untreated agave seeds, germination and emergence did not exceed

hijuelos de planta madre. Asimismo, los productores podrían coleccionar semillas y establecer almácigos sin considerar posibles lesiones físicas o fitosanitarias en las semillas que pudieran alterar el proceso de germinación, desarrollo radicular, crecimiento y malformaciones a nivel celular y vascular, mismas que se llegan a manifestar en las estructuras externas (El Amerany et al., 2020).

Los porcentajes de germinación y emergencia de *A. salmiana* indicaron que la viabilidad y la calidad fisiológica de la simiente fue favorable cuando es tratada con quitosano a 0.2 y 0.5 g·L⁻¹. Peña-Datoli et al. (2016) mencionan que la emergencia depende de las respuestas fisiológicas y bioquímicas de la semilla, además de las condiciones bióticas y abióticas. En esta investigación se deduce que el agua más el quitosano activaron el proceso de respiración de la estructura botánica e incrementaron la velocidad de germinación. En el proceso de germinación de las semillas de *A. salmiana*, la imbibición es fundamental para la absorción de agua. De acuerdo con Pincay-Manzaba et al. (2021), el proceso de imbibición de las semillas permite alcanzar porcentajes de humedad similares entre sí en menor tiempo y, con ello, activar el metabolismo relacionado con el proceso pregerminativo. De acuerdo con Costales-Menéndez et al. (2020), en semillas de plantas convencionales de interés agrícola como jitomate o soya, la respiración se detecta en tiempo de minutos y el proceso de germinación y emergencia de las plántulas se acelera, comparado con las semillas de agave donde el proceso puede tardar horas (Sánchez-Salas et al., 2017). Por su parte, Gutiérrez-Hernández et al. (2020) indicaron que el quitosano estimuló los procesos de germinación, respiración y reducción de la pérdida de agua por transpiración en *A. potatorum* Zucc.

A partir de las estructuras botánicas, morfológicas y anatómicas, la forma lacrimiforme semiplana de las semillas de agave proporcionan flotabilidad, además presentan cubierta porosa con hipodermis rodeada de cámaras de aire. De acuerdo con Villanueva-Castillo et al. (2021), estas características facilitan la permeabilidad, captura de agua en periodos cortos de inundación y propician la germinación; es decir, al absorber agua comienza el proceso de respiración, se activa la división celular del organelo y con ello se activa la síntesis de proteínas, dando inicio el proceso de nuevas células y mitocondrias (Cruz-Vasconcelos et al., 2020). En el proceso final, la semilla completa la germinación y emergencia, para finalizar el desarrollo de la plántula; Jasso-de Rodríguez et al. (2024) indicaron que las semillas de jitomate embebidas con quitosano pueden estimular la actividad de la enzima ACC sintetasa, involucrada en la síntesis del etileno, lo que propicia crecimiento y desarrollo radicular y aéreo de plántulas.

Con la aplicación de 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ de quitosano, la emergencia de *A. salmiana* fue 80 y 74 %, respectivamente,

30 %, in contrast to chitosan-coated seeds, which showed a positive response. Nevertheless, the effect of increasing chitosan concentration in agave seeds is not progressive; therefore, it does not necessarily imply that the response variables (seed germination and seedling emergence) will increase proportionally. In this study, the highest chitosan concentration ($3.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) did not produce the highest germination and emergence percentages. In this regard, Reyes-Pérez et al. (2020) observed that both the control and the $3.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ chitosan treatment in tomato seeds showed similar effects on emergence rate, consistent with the present study. This response suggests that optimal chitosan concentrations for seeds should be evaluated and determined based on seed type, structure, seed coat characteristics, and exposure time, to stimulate and enhance germination percentages required for certified seed quality. In a related study, Reyes-Pérez et al. (2021) reported that at low chitosan concentrations, plant tissue responses are favorable for tomato seed germination, as well as for plant development and protection.

In *A. victoriae* Reginae seeds, Sánchez-Salas et al. (2017) reported that germination and germination speed are influenced by treatment type and seed size. Cruz-Vasconcelos et al. (2020) indicated that the CO_2 exchange rate affects the vegetative development of agave seeds and seedlings. GSI was higher in seeds treated with $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ chitosan (0.67 ± 0.04) compared with untreated seeds (0.25 ± 0.03).

The emergence rate was higher at the $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ dose (13.24 ± 0.79 seedling $\cdot\text{day}^{-1}$), whereas the lowest rate was observed in the control treatment (5.21 ± 0.66 seedling $\cdot\text{day}^{-1}$). The application of chitosan stimulated seed germination and seedling emergence in *A. salmiana*. The concentrations of the active ingredient are important in each of the physiological processes of the seed and, potentially, of the plant. In the case of *A. salmiana*, these results represent the first report using chitosan in seeds; however, recommended doses for commercially cultivated species should be previously evaluated under production site conditions. In this regard, future studies should consider evaluating temperature and substrate interactions with chitosan, as well as seedling morphometric responses.

Conclusions

Germination of *A. salmiana* 'Xamini' using chitosan at concentrations of 0.2 and $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ was 80 and 74 %, respectively. The optimal dose for the germination speed index and emergence rate was $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. These low chitosan concentrations improve germination compared with higher doses (1 and $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and may contribute to the conservation and propagation

valores que difieren de los reportados por Reyes-Pérez et al. (2020), quienes mencionan de 55 a 91 % de emergencia en semillas de tomate, pero con dosis mayores de quitosano ($2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Los resultados no siempre son favorables; en el caso de las semillas de agave sin tratamiento, la germinación y emergencia no superaron 30 %, caso contrario el de las semillas recubiertas con quitosano que respondieron favorablemente. No obstante, el efecto del incremento de la dosis de quitosano en la semilla de agave no es progresivo y, por ende, no significa que las variables respuesta (germinación de semillas y emergencia de plántulas) se incrementarán en la misma medida. En esta investigación, la dosis más alta de quitosano fue de $3.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y no provocó los mayores porcentajes de germinación y de emergencia; al respecto, Reyes-Pérez et al. (2020) observaron que el testigo y el tratamiento con $3.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de quitosano en semillas de jitomate tuvieron efecto similar en la tasa de emergencia, al igual que en el presente estudio. Esta respuesta sugiere que, las concentraciones óptimas de quitosano en las semillas deben ser valoradas y estimadas con base en el tipo de semilla, estructura, testa y tiempo de exposición, de manera que permitan el estímulo e incremento del porcentaje de germinación requerido para una semilla certificada. En un estudio similar, Reyes-Pérez et al. (2021) mencionan que, a concentraciones bajas de quitosano, la respuesta de los tejidos vegetales es favorable para la germinación de las semillas de jitomate, así como para el desarrollo y la protección de las plantas.

En semillas de *A. victoriae* Reginae, Sánchez-Salas et al. (2017) señalaron que la germinación y velocidad de germinación se ven afectados por el tipo de tratamiento y tamaño de semilla, también Cruz-Vasconcelos et al. (2020) mencionan que la tasa de intercambio de CO_2 influye en el desarrollo vegetativo de la semilla y de la plántula de agave. El IVG fue mayor en las semillas tratadas con $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de quitosano (0.67 ± 0.04) respecto a las semillas no tratadas (0.25 ± 0.03).

La tasa de emergencia fue mayor con la dosis de $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (13.24 ± 0.79 plántula $\cdot\text{día}^{-1}$), mientras que la tasa menor se observó en las semillas del tratamiento testigo (5.21 ± 0.66 plántula $\cdot\text{día}^{-1}$). La aplicación del quitosano estimuló la germinación de semillas de *A. salmiana* y la emergencia de las plántulas. Las concentraciones del ingrediente activo son importantes en cada uno de los procesos fisiológicos de la semilla y, posiblemente, de la planta. Para el caso de *A. salmiana*, estos resultados son los primeros que se reportan utilizando quitosano en las semillas; sin embargo, las dosis recomendadas para especies cultivadas comercialmente deben ser valoradas previamente en los sitios de producción. En este sentido, futuros trabajos deben considerar la evaluación de temperaturas y sustratos en interacción con el quitosano, así como las respuestas morfométricas de plántulas.

of agave species diversity. This supports the use of chitosan as a natural product, free of toxic residues, thereby reducing the need for synthetic products.

Acknowledgments

The authors thank the *Agave salmiana* producers and the Secretaría de Desarrollo Agropecuario of Hidalgo, Mexico for providing the seeds used in this study.

Conflict of Interest Declaration

The authors declare that they have no economic conflicts of interest or known personal relationships that could have influenced the research presented in this article.

Declaration of Artificial Intelligence (AI) Use

The authors declare that no generative AI or AI-assisted technology was used in the preparation of this manuscript.

End of English version

References / Referencias

- Ahmed, K. B. M., Khan, M. M. A., Siddiqui, H., & Jahan, A. (2020). Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production -a review. *Carbohydrate Polymers*, 227, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115331>
- Castillo-Quiroz, D., Villareal-Quintanilla, J. A., & Pineda-Cano, A. (2020). El género *Agave* L. bajo cultivo: taxonomía, distribución y usos. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 32(101), 57-70. <https://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/forestales/article/view/826>
- Chagas, L. Y., Herrera, B. O., & Pereira de Lucena, E. M. (2022). Uso da quitosana na agricultura: uma revisão com ênfase na aplicação em sementes. *Research, Society and Development*, 11(2), e39911225782. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25782>
- Cruz-Vasconcelos, S. T., Ruiz-Posadas, L. del M., García-Moya, E., Sandoval-Villa, M., & Cruz-Huerta, N. (2020). Crecimiento y tasa de intercambio de CO₂ de maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) obtenido por semilla. *Agrociencia*, 54, 911-926. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i7.2242>
- Costales-Menéndez, D., Falcón-Rodríguez, B., & Travieso-Hernández, L. (2020). Efecto de la masa molecular de quitosanos en la germinación y el crecimiento *in vitro* de soya. *Cultivos Tropicales*, 41(1), e05. <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1539/2787>
- Enríquez-del Valle, J. R., Chávez-Cruz, I. L., Rodríguez-Ortiz, G., & Campos-Angeles, G. V. (2023). Vitroplantas de *Agave angustifolia* Haw. obtenidas en ambientes de incubación contrastantes, aclimatadas en diferentes sustratos. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 46(3), 291-298. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.3.291>

Conclusiones

La germinación de *A. salmiana* 'Xamini' con la aplicación de quitosano en concentraciones de 0.2 y 0.5 g·L⁻¹ fue de 80 y 74 %, respectivamente. La dosis óptima para el índice de velocidad de germinación y tasa de emergencia fue la concentración de 0.2 g·L⁻¹. Estas dosis bajas de quitosano ofrecen mejoras en la germinación en comparación con las dosis altas (1 y 3 g·L⁻¹) y promueven la diversidad de especies de agave. Esto faculta el uso del quitosano como producto natural, libre del suministro de residuos tóxicos, a fin de evitar el uso de productos sintéticos.

Agradecimientos

Se agradece a los productores de *Agave salmiana* y a la Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Hidalgo, México por la donación de semillas para la evaluación en esta investigación.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

Declaración del uso de inteligencia artificial (IA)

Los autores declaramos no haber utilizado IA generativa o tecnologías asistidas por IA para el desarrollo del presente manuscrito.

Fin de la versión en español

- El Amerany, F., Rhazi, M., Wahbi, S., Taourirte, M., & Meddich, A. (2020). The effect of chitosan, arbuscular mycorrhizal fungi, and compost applied individually or in combination on growth, nutrient uptake, and stem anatomy of tomato. *Scientia Horticulturae*, 261, 109015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109015>
- Fajinmi, O. O., Olarewaju, O. O., & van Staden, J. (2021). Role of fire and fire cues in seed germination, seedling vigor, and establishment of species from fire-prone vegetation and its potential in African underutilized leafy vegetables and edible weeds: a review. In S. Gupta & J. van Staden (Eds.), *Biostimulants for crops from seed germination to plant development* (pp. 445-459). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823048-0.00002-2>
- García Mendoza, A. J., & Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2021). *Sistemática y distribución actual de los Agave spp. mezcaleros. Versión 1.17*. CONABIO. <https://doi.org/10.15468/yjucctt>
- Gutiérrez-Hernández, G. F., Ortiz-Hernández, Y. D., Corzo-Ríos, L. J., & Aquino-Bolaños, T. (2020). Composición química y germinación de semillas de Tobilá (*Agave potatorum*).

- Interciencia*, 45(5), 223-228. https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2020/06/02_6712_Com_Ortiz_v45n5_6.pdf
- International Seed Testing Association (ISTA). (2016). *International rules for seed testing. The International Seed Testing Association (ISTA)*. Bassersdorf, Suiza. https://vri.umayor.cl/images/ISTA_Rules_2016_Spanish.pdf
- IUSS Working Group WRB. (2015). *World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports 106*. FAO. <https://www.fao.org/3/i3794en/i3794en.pdf>
- Jasso-de Rodríguez, D., Ramírez-Pérez, C., Ramírez-Rodríguez, H., Villarreal-Quintanilla, J. Á., Hernández-Pérez, A., Díaz-Jiménez, M. L. V., & Peña-Ramos, F. M. (2024). Bioestimulantes de plantas del semidesierto en el crecimiento radicular y aéreo de plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 11(3), e4145. <https://doi.org/10.19136/era.a11n3.4145>
- JMP Statistical Discovery LLC. (2026). JMP® (Version 16). Cary, NC, USA. <https://my.jmp.com/jmpportal/s/download-jmp>
- Makhaye, G., Mofokeng, M. M., Tesfay, S., Aremu, A. O., van Staden, J., & Amoo, S. O. (2021). Influence of plant biostimulant application on seed germination. In S. Gupta & J. van Staden J. (Eds.), *Biostimulants for crops from seed germination to plant development* (pp. 109-135). Science Direct Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823048-0.00014-9>
- Mirbolook, A., Rasouli-Sadaghiani, M., Sepehr, E., Lakzian, A., & Hakimi, M. (2021). Synthesized Zn (II)-amino acid and -chitosan chelates to increase Zn uptake by bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 831-847. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10151-y>
- Pham, A. T., Menghan, S., Tran-Nguyen, N., Seokhoon, P. & Belay, T. A. (2019). Molecular mechanisms of seed germination. In H. Feng, B. Nemzer, & J. W. DeVries (Eds.), *Sprouted grains. Nutritional value, production and applications* (pp. 1-24). SienceDirect AACC International Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4>
- Peña-Datoli, M., Hidalgo-Moreno, C. M. I., González-Hernández, V. A., Alcántar-González, E. G., & Etchevers-Barra, J. D. (2016). Recubrimiento de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con quitosano y alginato de sodio y su efecto en el desarrollo radical. *Agrociencia*, 50(8), 1091-1106. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1271/1271>
- Pincay-Manzaba, D. F., Cedeño-Loor, J. C., & Espinosa, C. K. A. (2021). Efecto del quitosano sobre el crecimiento y la productividad de *Solanum lycopersicum*. *Centro de Investigaciones Agropecuarias*, 48(3), 25-31. <http://cagricola.uclv.edu.cu/index.php/es/volumen-48-2021/no-3-jul-sep-2021/1305-efecto-del-quitosano-sobre-el-crecimiento-y-la-productividad-de-solanum-lycopersicum>
- Reyes-Pérez, J. J., Rivero-Herrada, M., García-Bustamante, E. L., Beltrán-Morales, F. A. & Ruiz-Espinosa, F. H. (2020). Aplicación de quitosano incrementa la emergencia, crecimiento y rendimiento del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de invernadero. *Biotecnia*, 22(3), 156-163. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.1338>
- Reyes-Pérez, J. J., Enríquez-Acosta, E. A., Ramírez-Arrebato, M. A., Zúñiga, V. E., Lara-Capistrán, L., & Hernández-Montiel, L. G. (2021). Efecto del quitosano sobre variables del crecimiento, rendimiento y contenido nutricional del tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 457-465. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.2392>
- Riseh, R. S., Vazvani, M. G., Vatankhah, M. & Kennedy, J. F. (2024). Chitosan coating of seeds improves the germination and growth performance of plants: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278(6), 134750. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134750>
- Sánchez-Salas, J., Flores, J., Jurado, E., Sáenz-Mata, J., Orozco-Figueroa, P., & Muro-Pérez, G. (2017). Hidrocoria en semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore, especie en peligro de extinción: Morfología y anatomía como facilitadores de la hidrodispersión y germinación. *Gayana Botánica*, 74(2), 251-261. <https://gayanabotanica.cl/index.php/gb/article/view/264/93>
- Vázquez-Díaz, E., Vázquez-Díaz, J. R., Peña-Valdivia, C. B., Ramírez-Tobías, H. M., & Morales-Ramos, V. (2011). Tamaño de la semilla, emergencia y desarrollo de la plántula de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 34(3), 167-173. <https://doi.org/10.35196/rfm.2011.3.167>
- Villanueva-Castillo, D. M., Velasco-Velasco, V. A., De los Santon-Romero, R. B., Ruiz-Luna, J., & Rodríguez-Ortiz, G. (2021). Variación morfométrica en semillas de agaves silvestres de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(1), 155-162. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i1.2426>