

ESCARIFICACIÓN QUÍMICA Y APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO PARA LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CULTIVARES DE MORA (*Rubus glaucus* BENTH)

Wilson Vásquez, Patricia Pupiales, Pablo Viteri, Andrea Sotomayor, Carlos Feican, Diego Campaña y William Viera

RESUMEN

Para el fomento del cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth) en la región interandina de Ecuador se requiere la generación de nuevas plantas, siendo la propagación sexual una de las maneras obtener nuevo material vegetal. La germinación de semillas del género *Rubus* sp. es un proceso complejo debido a que la dormancia física y fisiológica puede estar presente en muchas de sus especies. En este estudio, se evaluaron dos productos químicos (hipoclorito de sodio 5,25% y ácido sulfúrico 98%) para la escarificación de semillas de los cultivares 'Castilla', 'Andimora' e 'INIAP-148' de *R. glaucus* y la aplicación de diferentes dosis de ácido giberélico (0, 500, 1000 y 1500ppm) que

permitan inducir, acelerar e incrementar la germinación de semillas. Los cultivares 'Castilla' y 'Andimora' tratados con hipoclorito de sodio 5,25% presentaron porcentajes de germinación altos (~80%). El ácido sulfúrico obtuvo un porcentaje de germinación similar al testigo, debido a que pudo causar daños directos a la semilla, afectando su emergencia. La aplicación de ácido giberélico únicamente tuvo efecto en el cultivar 'INIAP-148' a la dosis de 1000ppm. 'INIAP-148' tuvo mayor porcentaje de germinación de forma natural; mientras que 'Castilla' y 'Andimora' requirieron obligatoriamente el proceso de escarificación.

Introducción

Los frutales andinos son una alternativa de producción interesante, ya que a nivel mundial existe una creciente demanda de frutas debido a los múltiples beneficios a la salud humana por sus aportes de vitaminas, minerales y antioxidantes. La mora de 'Castilla' (*Rubus glaucus* Benth) es originaria de la región andina. Es un frutal que ha sido cultivado tradicionalmente en Ecuador (Viteri *et al.*, 2016), donde se reportan ~5000ha de cultivo que involucran de manera directa a unos 15000 pequeños y medianos productores de la Sierra, quienes obtienen rendimientos promedio de 5t·ha⁻¹·año (Jácome *et al.*, 2016), producto de un nivel tecnológico bajo que requiere ser mejorado a través de programas integrales que

involucran el manejo agronómico, fitosanitario y mejoramiento genético como pilares para el desarrollo tecnológico.

Para llevar a cabo un programa de mejoramiento es necesario obtener nuevas poblaciones a través de cruzamientos entre líneas parentales con características deseables, con el objetivo de obtener nuevos individuos que serán evaluados para seleccionar materiales élite, para lo que se requiere obtener la mayor cantidad de plántulas en el periodo más corto posible (Contreras *et al.*, 2016).

La germinación de semillas de *Rubus* sp. es un proceso complejo debido a que la dormancia física y fisiológica pueden estar presentes en muchas de sus especies (Wada y Reed, 2011), siendo un punto crítico en la tasa de multiplicación en este género, que presenta

generalmente germinaciones erráticas y lentas, y variación en la latencia entre genotipos de la misma especie (Ellis *et al.*, 1985). Finch y Leubner (2006) señalan que la dormancia de las semillas es una característica genética de supervivencia, buscando las mejores condiciones ambientales para germinar, por lo que el fenómeno es influenciado por el medio ambiente y está mediado, al menos en parte, por las hormonas de las plantas.

La dormancia física ocurre debido a que la semilla posee en su exterior una capa impermeable o 'testa', la cual impone una resistencia mecánica a la emergencia de las plántulas. La testa debe ser debilitada para permitir que la humedad entre en contacto con el embrión y permitir el proceso de germinación (Baskin y Baskin,

2004; Contreras *et al.*, 2016). En este sentido la escarificación mecánica o química promueven una germinación rápida y uniforme, eliminando la testa y permitiendo la adecuada imbibición de la semilla, lo que ocurre siempre y cuando no se presente una latencia fisiológica (Contreras *et al.*, 2016). La dormancia fisiológica es una adaptación al ambiente externo y puede dificultar la germinación, produciéndose en respuesta a señales específicas de temperatura, luz o químicas (fitohormonas) (Oh *et al.*, 2006). Cuando la semilla está en condiciones favorables para la germinación, disminuye el nivel de ácido abscísico y la biosíntesis del ácido giberélico comienza a incrementarse, lo que inhibe la latencia y da paso a la germinación (Ogawa *et al.*, 2003;

PALABRAS CLAVE / Ácido Sulfúrico / Dormancia Física / Dormancia Fisiológica / Propagación Sexual /

Recibido: 13/10/2018. Modificado: 15/03/2019. Aceptado: 18/03/2019.

Wilson Vásquez. Ph.D. in Plant Physiology, Imperial College Londres, Inglaterra. Docente-Investigador, Universidad de las Américas (UDLA), Ecuador
Patricia Pupiales. Estudiante de Ingeniería Agronómica, Universidad Central de Ecuador.
Pablo Viteri. Ingeniero Agrónomo, Universidad Central del Ecuador (ICE) Investigador, Instituto

Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Ecuador.
Andrea Sotomayor. Magister en Gestión de Proyectos, Universidad de las Fuerzas Armadas, Ecuador. Investigador, INIAP, Ecuador.
Carlos Feican. Magister en Ciencias en Fruticultura, Colegio de Posgraduados, Montecillo,

México. Investigador, INIAP, Ecuador.
Diego Campaña. Magister en Gerencia Empresarial, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador. Investigador, INIAP, Ecuador.
William Viera. Master in Plant Breeding, Lincoln University, Nueva Zelanda. Investigador, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias,

Ecuador. Dirección: Granja Experimental Tumbaco, INIAP. Av. Interoceánica km 15 y Eloy Alfaro, Tumbaco, Quito, Ecuador, 170184. e-mail: william.viera@iniap.gob.ec

CHEMICAL SCARIFICATION AND USE OF GIBBERELIC ACID FOR SEED GERMINATION OF BLACKBERRY CULTIVARS (*Rubus glaucus* BENTH)

Wilson Vásquez, Patricia Pupiales, Pablo Viteri, Andrea Sotomayor, Carlos Feican, Diego Campaña, and William Viera

SUMMARY

Blackberry (*Rubus glaucus* Benth) cultivation in the Inter-Andean region of Ecuador requires the generation of new plants; thus, sexual propagation is one of the ways to obtain new plant material. Germination of seeds of the *Rubus* sp. gender is a complex process because physical and physiological dormancy may be present in many of its species. In this study, two chemical products (5.25% sodium hypochlorite and 98% sulfuric acid) were evaluated for the scarification of seeds of the 'Castilla', 'Andimora' and 'INIAP-148' cultivars of *R. glaucus* and the application of different doses of gibberellic acid (0, 500,

1000, 1500ppm) that allow to induce, accelerate and increase seed germination. Cultivars 'Castilla' and 'Andimora' treated with 5.25% sodium hypochlorite had high germination percentages (~80%). Sulfuric acid led to a germination percentage similar to the control as it could cause direct damage to the seed, affecting its emergence. The application of gibberellic acid only had an effect on cultivar 'INIAP-148' at a dose of 1000ppm. 'INIAP-148' showed the highest natural germination percentage; while 'Castilla y Andimora' necessarily requires the process of scarification.

ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA E UTILIZAÇÃO DE ÁCIDO GIBERÉLICO PARA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CULTIVARES DE MORA (*Rubus glaucus* BENTH)

Wilson Vásquez, Patricia Pupiales, Pablo Viteri, Andrea Sotomayor, Carlos Feican, Diego Campaña, e William Viera

RESUMO

Para o desenvolvimento do cultivo de amora (*Rubus glaucus* Benth) na região interandina do Ecuador se faz necessário produzir novas plantas; neste caso, a propagação sexuada, através de sementes, é uma das formas de obtenção de novo material vegetal. A germinação de sementes do gênero *Rubus* sp. é um processo complexo devido ao estado de dormência física e fisiológica que muitas de suas espécies possuem. No presente estudo, foram avaliados dois produtos químicos (hipoclorito de sódio 5,25% e ácido sulfúrico 98%) para o processo de escarificação de sementes dos cultivares 'Castilla', 'Andimora' e 'INIAP-148' de *R. glaucus* e a aplicação de diferentes doses de ácido giberélico (0, 500, 1000 e 1500ppm) para permitir

a aceleração e indução do processo de germinação das sementes. As sementes de cultivares 'Castilla' y 'Andimora' tratadas com hipoclorito de sódio 5,25% apresentaram alta porcentagem de germinação (~80%). O tratamento com ácido sulfúrico apresentou uma porcentagem de germinação próxima a ao controle, podendo causar danos diretos à semente afetando a emergência. A aplicação de ácido giberélico teve efeito apenas sobre a cultivar 'INIAP-148' na dose de 1000ppm. O 'INIAP-148' apresentou maior porcentagem de germinação naturalmente; enquanto 'Castilla' y 'Andimora' requer necessariamente o processo de escarificação.

Achard y Genschik, 2009). Las condiciones requeridas para romper la latencia pueden incluir la aplicación de ácido giberélico u otras hormonas (Willis *et al.*, 2014; Cavusoglu y Sulusoglu, 2015).

El objetivo del estudio fue evaluar tratamientos químicos para producir la escarificación de semillas de tres cultivares de mora y dosis de aplicación de ácido giberélico que permitan inducir, acelerar e incrementar la germinación.

Materiales y Métodos

Ubicación

La investigación fue llevada a cabo en la parroquia de Tumbaco, Pichincha, Ecuador, en la Granja Experimental Tumbaco del Programa Nacional de Fruticultura del Instituto Nacional de

Investigaciones Agropecuarias (INIAP), localizada en 00°12'54"S y 78°24'43"O, a una altitud de 2348msnm. En el invernadero se registró una temperatura media de 18°C, máxima de 25°C, mínima de 15°C y humedad relativa de 47%.

Material vegetal

Las semillas se obtuvieron de frutos maduros de los cultivares 'Castilla', 'Andimora' e 'INIAP-148', en estado 6 de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN, 2010). Para la extracción de la semilla se procedió a lavar los frutos colocándolos en un tamiz y se ejerció presión hasta separar las semillas del mucílago. Se lavó con abundante agua y se dejó secar a la sombra por 24h a temperatura ambiente (20°C).

Tratamientos y análisis estadístico

Los factores en estudio estuvieron constituidos por los tres cultivares de mora: 'Castilla' (C1), 'Andimora' (C2) e 'INIAP-148' (C3); químicos escarificantes: testigo (T0), ácido sulfúrico (H₂SO₄) en una concentración del 98% (T1) e hipoclorito de sodio (NaClO) en una concentración del 5,25% (T2); y las siguientes dosis de ácido giberélico (C₁₉H₂₂O₆): 0 (D1), 500ppm (D2), 1000ppm (D3) y 1500ppm (D4). Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar en un arreglo factorial 3×3×4, con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por una maceta de 0,35l de capacidad conteniendo 40 semillas. Los datos fueron analizados con el software R 3.3.1. Se

utilizó la prueba de Tukey al 5% para determinar rangos de significación.

Preparación de los tratamientos

Las semillas fueron sumergidas en ácido sulfúrico 98% durante 60min, lavadas con agua potable y se dejaron secar bajo sombra por 24h a temperatura ambiente (Figura 1). En cuanto al tratamiento con hipoclorito de sodio 5,25%, las semillas fueron sumergidas durante 16h, lavadas con agua potable y secadas bajo sombra a temperatura ambiente (Figura 1). El ácido giberélico se aplicó en las distintas concentraciones después de que la semilla fuera tratada con el químico escarificante. La semilla fue sumergida en la hormona durante 24h, para posteriormente ser secada y sembrada.

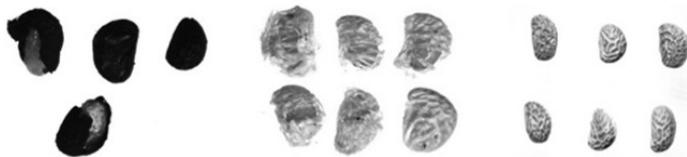


Figura 1. Semillas de mora de ‘Castilla’ tratadas con ácido sulfúrico 98% (izquierda), hipoclorito de sodio 5,25% (centro) y semillas sumergidas en agua como testigo (derecha).

Cuarenta semillas por cada tratamiento fueron sembradas en macetas de 500g de capacidad conteniendo sustrato estéril (tierra negra y pomina en proporción 2:1). Se realizaron riegos cada 48h, colocando 100ml de agua esterilizada en cada maceta. El control fitosanitario se realizó en forma preventiva con ayuda de un rociador; se utilizó Captan ($1g \cdot l^{-1}$) cada 15 días y pentacloronitrobenzeno ($15g \cdot l^{-1}$) cada 21 días. Una vez que las plantas emergieron fueron trasplantadas a macetas de 500ml de capacidad conteniendo sustrato estéril, para posteriormente evaluar las variables de crecimiento.

Variables analizadas

Porcentaje de germinación (PG). Se contabilizó el número de semillas germinadas a los 120 días y se relacionó con el número de semillas sembradas, mediante la ecuación (Deaquiz-Oyola y Burgos-Avila, 2015):

$$PG = \frac{N}{NS} \times 100$$

donde N: número de semillas germinadas, y NS: número de semillas sembradas. MGS

Velocidad media de germinación (VMG). Se realizaron observaciones diarias de las semillas desde la siembra hasta que emergió el primer cotiledón, considerándose así el número de días que emplearon las semillas para germinar. El valor se estimó mediante la ecuación (Deaquiz-Oyola and Burgos-Avila, 2015):

$$VMG = \frac{\sum \frac{ni}{ti}}$$

donde ni: número de semillas germinadas en el i-ésimo día, y ti: tiempo en días para la germinación en el i-ésimo día. MGS

Número de hojas. Se evaluó en 10 plantas seleccionadas al azar de cada unidad

experimental. Esta variable se evaluó a los 30 y 60 días después del trasplante. MGS

Longitud de la raíz (cm). Se utilizó un calibrador digital (Mitutoyo) para medir la longitud de la raíz principal a los 30 y 60 días después del trasplante de 10 plantas seleccionadas al azar de cada tratamiento. MGS

Altura de la planta (cm). Se utilizó un calibrador digital (Mitutoyo) para medir la altura de la planta a los 30 y 60 días después del trasplante de 10 plantas seleccionadas al azar. La medición se la realizó desde la base del tallo hasta la última hoja desarrollada.

Resultados y discusión

Porcentaje de germinación a los 90 días

Al analizar los efectos de los factores individuales, el mayor porcentaje de germinación lo obtuvo el cultivar ‘INIAP-148’ con 41,46%; mientras que el menor porcentaje se observó en ‘Andimora’ con 23,75% (Tabla I). Zasada y Tappeiner (2003), en una revisión sobre métodos para romper la latencia en el género *Rubus*, señalaron que la respuesta germinativa exhibía variaciones inter- e intraespecíficas. Además, Díaz (2011) reportó un comportamiento diferencial en los porcentajes de germinación de nueve genotipos de mora evaluados, variando desde 0,82% hasta 83,4%, lo que indica que existe evolución en nichos ecológicos diversos, reflejándose en comportamientos germinativos diferenciales en la simiente como respuesta a un hábitat diferente a aquel del cual provienen. Por otro lado, Fenner y Thompson (2005) manifiestan que poblaciones de origen diverso pueden exhibir diferentes requerimientos para el rompimiento

del bloqueo de la germinación y el logro de la emergencia; sin embargo, los cultivares evaluados en este estudio corresponden a una misma especie.

Al analizar los químicos escarificantes, se observó que el hipoclorito de sodio actuó desintegrando la testa y mejoró la germinación en 40,68%, con relación al testigo (Tabla I). Díaz *et al.* (2013) determinaron en semillas de *Rubus glaucus* que el uso de hipoclorito de sodio 5,25% mejoró la germinación en un 88,33%, valor superior al obtenido en este estudio, donde se alcanzó una germinación de 58,28%. Cabe mencionar que en el experimento realizado por Díaz *et al.* (2013), la viabilidad de las semillas de mora del cultivar ‘Castilla’ fue de 100% luego de la inmersión en este químico y, además, que la germinación se llevó a cabo en incubadoras, mientras que en este estudio se utilizó sustrato estéril. Gonçalves *et al.* (2014) reportaron que el hipoclorito de sodio utilizado como agente escarificante mejoró la germinación de semillas de fresa en casi 50% en comparación con el control. Con el uso de los químicos escarificantes, en el presente experimento se pudo observar que se aceleró el proceso de germinación; con hipoclorito de sodio la germinación empezó en promedio a los 10 días, con ácido sulfúrico a los 15 días, mientras que en el testigo la semilla germinó a los 90 días.

Al usar ácido sulfúrico la diferencia con relación al testigo no fue significativa y únicamente se diferenció en 1,65% (Tabla I). Con relación al efecto de este ácido, existen informaciones contradictorias a la exposición del ácido con las especies del género *Rubus*. Díaz (2011) observó en el cultivar ‘San Antonio’ que el ácido sulfúrico 98% redujo la viabilidad de la semilla entre 14 y 17%, lo cual señala un efecto nocivo del químico, que influye en bajos porcentajes de germinación como ocurrió en este estudio, concordando que el manejo de este ácido es delicado debido a que puede

causar severos daños a la semilla y afectar al embrión (Peacock y Hummer, 1996; Cabello *et al.*, 1998). El manejo adecuado del ácido sulfúrico como agente escarificante ha permitido en especies como *Tectona grandis* mejorar el porcentaje de germinación en un rango del 16 al 28% (Manonmani y Vanangamudi, 2003; Jatt *et al.*, 2007).

Varios autores manifiestan que las giberelinas son importantes para inducir rompimiento de la latencia después de la imbibición de las semillas, permitiendo la germinación y crecimiento del embrión, por lo que son ampliamente utilizadas para promover o inducir la germinación de semillas en diversas especies de plantas (Tigabu y Odén, 2001; Siobhan y McCourt, 2003). Sin embargo, en este estudio, al evaluar el efecto principal de la aplicación de las diferentes dosis de ácido giberélico no se observó efecto en la germinación. El testigo sin aplicación presentó mayor porcentaje de germinación (44,24%) que los tratamientos tratados con esta hormona. El menor porcentaje de germinación se obtuvo con la dosis de 500ppm (26,60%). Entre dosis no se presentaron diferencias significativas (Tabla I). Estos resultados son similares a los reportados por Deaquiz-Oyola y Burgos-Avila (2015), quienes encontraron porcentajes de germinación bajos (28,57%) aplicando dosis de 100, 200 y 400ppm de giberelinas en semillas de *Solanum lycopersicum*. Por otro lado, se ha reportado que las giberelinas ejercen un efecto inhibitorio en el proceso de germinación en algunas especies de cactáceas (Rojas *et al.*, 2001; Olvera *et al.*, 2003; Ortega y Rojas., 2007; Cervantes *et al.*, 2010). Nuestros resultados demuestran que la sola aplicación del escarificante es suficiente para mejorar la germinación, no encontrándose efecto alguno del ácido giberélico comparado con el testigo sin aplicación, lo cual coincide con autores como Mandujano y Golubov (2007), que señalan que la utilización

TABLA I
PRUEBA DE TUKEY (5%) PARA LOS PROMEDIOS DE
AGENTES ESCARIFICANTES, DOSIS DE ÁCIDO
GIBERÉLICO Y CULTIVARES EN LAS VARIABLES
PORCENTAJE Y VELOCIDAD MEDIA DE GERMINACIÓN

Interacciones				
Agentes escarificantes	Dosis ac. giberélico (ppm)	Variedades	% germinación	Velocidad media de germinación (semillas/día)
NaClO	0	Castilla	81,88 a	3,11 a
NaClO	0	Andimora	78,75 ab	2,43 abc
NaClO	1000	INIAP-148	75,00 ab	2,8 ab
NaClO	1500	Castilla	68,13 abc	2,43 abc
NaClO	500	INIAP-148	62,50 abcd	2,29 bcd
NaClO	0	INIAP-148	60 abcde	2,27 bcd
NaClO	1500	INIAP-148	59,38 abcdef	2,15 bcde
NaClO	1000	Castilla	56,25 bcdefg	2,05 cde
NaClO	500	Castilla	45 cdefgh	1,71 de
NaClO	1500	Andimora	43,75 defgh	1,61 def
NaClO	500	Andimora	41,88 defgh	1,49 efg
NaClO	1000	Andimora	26,88 hijklm	0,93 fgh
Ac. sulfúrico	0	Andimora	39,38 defghi	0,86 ghi
Ac. sulfúrico	0	INIAP-148	39,38 defghi	0,74 hij
Ac. sulfúrico	0	Castilla	31,88 ghijkl	0,74 hij
Ac. sulfúrico	1000	Castilla	17,5ijklmn	0,4 hijk
Ac. sulfúrico	1500	Andimora	16,88 ijklmn	0,38 hijk
Ac. sulfúrico	1500	INIAP-148	16,88 ijklmn	0,36 hijk
Ac. sulfúrico	500	INIAP-148	15 jklm	0,36 hijk
Ac. sulfúrico	500	Andimora	15 jklm	0,33 hijk
Ac. sulfúrico	1500	Castilla	13,75 lmn	0,36 hijk
Ac. sulfúrico	1000	INIAP-148	12,5 lmn	0,31 hijk
Ac. sulfúrico	1000	Andimora	12,5 lmn	0,27 hijk
Ac. sulfúrico	500	Castilla	8,75 lmn	0,25 hijk
Testigo	0	INIAP-148	50,63 cdefg	0,29 hijk
Testigo	500	INIAP-148	38,13 efghij	0,25 hijk
Testigo	1500	INIAP-148	36,25 fghijk	0,24 ijk
Testigo	1000	INIAP-148	31,88 ghijkl	0,23 ijk
Testigo	1000	Castilla	14,78 klm	0,07 jk
Testigo	0	Castilla	11,88 lmn	0,06 jk
Testigo	1500	Castilla	10,63 lmn	0,05 k
Testigo	0	Andimora	4,37 mn	0,02 k
Testigo	500	Castilla	4,17 mn	0,02 k
Testigo	1500	Andimora	3,75 mn	0,02 k
Testigo	500	Andimora	1,25 n	0,01 k
Testigo	1000	Andimora	0,62 n	0,0029 k
Efectos principales				
Agentes escarificantes	Hipoclorito sodio (NaClO)		58,28 a	2,11 a
	Ac. sulfúrico (H2SO4)		19,25 b	0,45 b
	Testigo		17,6 b	0,11 c
Dosis ac. giberélico (ppm)	0		44,24 a	1,17 a
	500		26,60 b	0,76 b
	1000		27,01 b	0,79 b
	1500		29,93 b	0,84 b
Variedades	INIAP-148		41,46 a	1,02 a
	Castilla		30,63 b	0,96 a
	Andimora		23,75 c	0,7 b

de ácido giberélico para la germinación de semillas no es muy clara y en algunos casos es contradictorio.

En lo referente a la interacción (Tabla I), los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos CIT2D1 (cultivar 'Castilla', hipoclorito de sodio y con dosis 0 de ácido

giberélico), C2T2D1 (cultivar 'Andimora', hipoclorito de sodio y con dosis 0 de ácido giberélico) y C3T2D3 (cultivar 'INIAP-148', hipoclorito de sodio y 1000ppm de ácido giberélico) con porcentajes de germinación de 81,88%; 78,75% y 75,00% respectivamente.

Díaz (2011) señaló que existe interacción entre la escarificación y la aplicación de dosis crecientes del ácido giberélico debido a que el tratamiento de escarificación con hipoclorito de sodio 5,25% y ácido giberélico 2000ppm incentivó la germinación en 16,56%, por lo que considera que la mora tiene dormancia física y fisiológica. En el presente estudio, solamente en C3T2D3 se observó un efecto relevante con la aplicación de ácido giberélico, puesto que el porcentaje de germinación se incrementó en 24,37% con respecto al testigo absoluto. Por otro lado, las interacciones CIT2D1 y C2T2D1 mostraron incrementos significativos de 70,00 y 74,38% con la dosis nula (0ppm), indicando que para los cultivares 'Castilla' y 'Andimora' no es requerido el uso de esta hormona.

Velocidad de germinación

El cultivar 'INIAP-148' obtuvo la mayor velocidad de germinación con 1,02 semillas/día; mientras que la menor se presentó en el cultivar 'Andimora' con 0,7 semillas/día (Tabla I y Figura 2). De lo observado, tanto en porcentaje de germinación como velocidad media de germinación, 'Andimora' presentó germinaciones erráticas y lentas, apreciándose variación en la latencia con los otros cultivares de la misma especie evaluados, lo que coincide con lo señalado por Ellis *et al* (1985), quien menciona que en el género *Rubus* se presenta variación en la latencia entre genotipos de la misma especie, lo cual es evidente en la mora *R. glaucus* Benth. En cuanto a los químicos escarificantes, la mayor velocidad media de germinación se obtuvo utilizando el hipoclorito de sodio al 5,25% (2,11 semillas/día). Los tratamientos de ácido sulfúrico (0,45 semillas/día) y el testigo absoluto (0,11 semillas/día) se mantuvieron muy por debajo del valor alcanzado por el hipoclorito de sodio (Tabla I y Figura 2). Gonçalves *et al.* (2014) mencionaron que la

escarificación química con ácido clorhídrico o ácido sulfúrico a diferentes concentraciones puede utilizarse de forma efectiva como una técnica para superar la latencia, mejorando la germinación y su velocidad. El ácido sulfúrico, en los resultados obtenidos en este estudio, no superó al hipoclorito de sodio. Los autores antes mencionados consideran necesario optimizar el proceso, estudiando diferentes niveles de concentración del ácido y el tiempo de exposición de la semilla.

El aplicar ácido giberélico en las diferentes dosis utilizadas no tuvo efecto sobre la velocidad de germinación. El mejor resultado lo obtuvo la concentración de 0ppm de ácido giberélico con un promedio de 1,17 semillas/día; mientras que el menor valor se presentó con 500ppm (0,76 semillas/día; Tabla I y Figura 2). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Deaquiz-Oyola y Burgos-Avila (2015), quienes aplicaron giberelinas en *S. lycopersicum*, encontrando que con dosis de 400ppm obtuvieron una baja velocidad de germinación (0,68 semillas/día).

Al analizar la interacción para esta variable (Tabla I), los mejores resultados se obtuvieron en los siguientes tratamientos: CIT2D1, C3T2D3, C2T2D1 y C1T1D4 (cultivar 'Castilla', hipoclorito de sodio y 1500ppm de ácido giberélico) con 3,11; 2,8; 2,43 y 2,43 semillas/día, respectivamente.

Número de hojas, 30 y 60 días después del trasplante

A los 30 días del trasplante no se observó diferencias estadísticas en los cultivares estudiados; sin embargo, a los 60 días se observó que 'Andimora' incrementó su número de hojas (10,42 hojas/planta) en relación con los otros dos cultivares (Tabla II). En lo referente a los agentes escarificantes, a los 30 días se presentaron diferencias altamente significativas en comparación con el testigo sin escarificar. El mejor promedio lo presentó el tratamiento con hipoclorito de sodio,

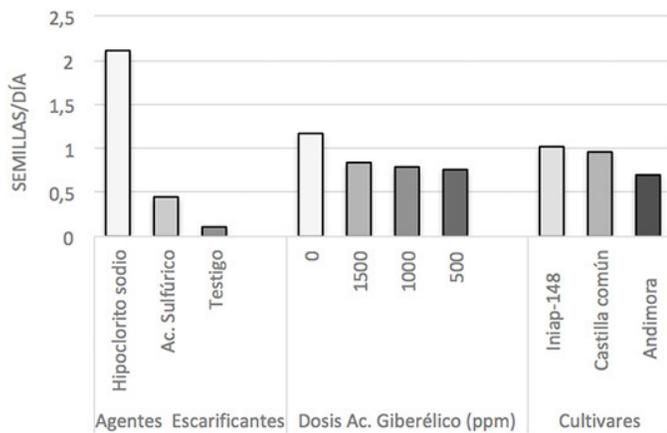


Figura 2. Promedios de agentes escarificantes, dosis de ácido giberélico y cultivares para velocidad media de germinación.

obteniéndose 8,15 hojas/planta; mientras que el testigo presentó solamente 5,93 hojas/planta. A los 60 días, el comportamiento fue similar al anterior periodo, siendo el mejor tratamiento el de hipoclorito de sodio con 10,56 hojas/planta, mientras que el menor valor lo presentó el testigo (8,57 hojas/planta) (Tabla II).

Uno de los mecanismos de acción del ácido giberélico consiste en un efecto directo sobre el potencial de crecimiento del embrión, lo que favorece su rápido crecimiento y desarrollo del tallo y hojas en los primeros días (Debeaujon y Koornneef 2000). La dosis de 1500ppm de ácido giberélico, resultó a los 30 días en 7,75 hojas/planta, mientras que el testigo presentó 6,94 hojas/planta. Las dosis de 500 y 1000ppm no difieren estadísticamente de la de 1500ppm.

(Tabla II). Se ha reportado que plántulas de *Carica papaya* provenientes de semillas tratadas con reguladores de crecimiento vegetal presentaron un mayor número de hojas por plántula que aquellas no tratadas (Andrade *et al.*, 2008). A los 60 días, los tratamientos con ácido giberélico no presentaron diferencias estadísticas (Tabla II). Por otro lado, Boschi *et al.* (1998), en un estudio realizado en *Anthurium scherzerianum*, manifiestan que la aplicación de ácido giberélico en dosis de 500ppm no incrementó el número de hojas por planta; incluso en dosis superiores a 1000ppm la planta presentó disminución en número de hojas.

Altura de la planta

Los cultivares presentaron diferencias significativas

únicamente a los 60 días de evaluación. 'Andimora' alcanzó la mayor altura con 2,92cm (Tabla II). Los agentes escarificantes presentaron diferencias significativas a los 30 y 60 días de evaluación, siendo los mejores tratamientos en los dos periodos, el correspondiente a hipoclorito de sodio (2,15cm a los 30 días y 2,97cm a los 60 días; Tabla II). Al analizar las dosis de ácido giberélico, en ninguno de los dos periodos de evaluación se presentaron diferencias estadísticas. Ramírez *et al.* (2012) menciona que las variables como la altura de planta presentan baja variabilidad estadística, incluso con la utilización de tratamientos pregerminativos en las semillas.

Longitud de raíz

Los cultivares estudiados no presentaron diferencias estadísticas en ninguno de los periodos de evaluación (Tabla II). Los agentes escarificantes presentaron diferencias significativas a los 30 días, obteniendo el ácido sulfúrico la mayor longitud de raíz con 15,7cm; comparando, sin embargo, el rango de significación con el hipoclorito de sodio (15,45cm). A los 60 días, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas (Tabla II). La aplicación de ácido giberélico no produjo diferencias significativas ni a los 30 como tampoco a los 60 días. En estudios realizados en *Carica papaya* (Andrade *et al.*, 2008) se observó que el crecimiento de la raíz se ve

afectado ligeramente (aunque sin presentar sin diferencia estadística) con la aplicación del ácido giberélico, obteniéndose una longitud de 6,0cm en comparación al testigo sin aplicación que alcanzó una longitud de 5,8cm. También, Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) y Ramírez *et al.*, (2012) mencionan que para esta variable en tratamientos pregerminativos se observa una baja variación que no permite identificar diferencias en *Leucaena leucocephala*.

Conclusión

El hipoclorito de sodio 5,25% incrementó el porcentaje de germinación y la velocidad de germinación de las semillas de los cultivares de mora; observándose que la sola aplicación de este producto escarificante es suficiente para obtener porcentajes de germinación superiores al 78% para los cultivares 'Castilla' y 'Andimora'. El inicio de emergencia de plántulas se observó a los 10 días después de la siembra; mientras que las semillas no tratadas con hipoclorito de sodio empezaron a germinar a los 90 días.

La aplicación de ácido sulfúrico 97% produjo porcentajes de germinación similares al testigo, pudiendo deberse a que este reactivo causó daños directos a la semilla, por lo que para su uso debe estudiarse tiempos de inmersión y concentraciones con más detalle para evitar efectos colaterales. Por otro lado, la aplicación de ácido giberélico no tuvo efecto en el proceso de ruptura de dormancia en las semillas en los cultivares de mora ensayados. Únicamente el cultivar 'INIAP-148' mostró un efecto positivo con la dosis de 1000ppm, la que incrementó el porcentaje germinación.

Finalmente, el cultivar 'INIAP-148' tuvo un mayor porcentaje de germinación de forma natural (sin la aplicación de escarificante y hormona); sin embargo, el porcentaje obtenido no fue óptimo. Por lo contrario, los cultivares 'Castilla' y 'Andimora'

TABLA II
PRUEBA DE TUKEY (5%) PARA LOS PROMEDIOS DE AGENTES ESCARIFICANTES, DOSIS DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y CULTIVARES EN LAS VARIABLES NÚMERO DE HOJA, ALTURA DE TALLOS Y LONGITUD DE RAÍZ A LOS 30 Y 60 DÍAS DEL TRANSPLANTE

Tratamientos		Número de hojas/planta		Altura de tallos (cm)		Longitud de raíz (cm)	
		30 días	60 días	30 días	60 días	30 días	60 días
Agentes escarificantes	Hipoclorito sodio	8,15 a	10,56 a	2,15 a	2,97 a	15,45 a	19,48
	Ácido sulfúrico	8,13 a	10,40 a	1,96 ab	2,59 b	15,71 a	18,74
	Testigo	5,93 b	8,57 b	1,80 b	2,42 c	9,97 b	17,81
Dosis ac. giberélico (ppm)	0	6,94 b	9,31	2,00	2,64	12,36	17,64
	500	7,51 ab	10,14	2,03	2,78	14,58	19,81
	1000	7,44 ab	9,95	1,86	2,67	14,24	19,35
	1500	7,75 a	10,03	1,99	2,56	13,67	17,92
Cultivares	Andimora	7,52	10,42 a	2,08	2,92 a	13,92	19,41
	Castilla	7,40	9,63 b	1,86	2,46 b	12,72	19,26
	INIAP-148	7,31	9,51 b	1,96	2,60 ab	14,49	17,36

requieren obligatoriamente el proceso de escarificación para obtener porcentajes de germinación altos.

REFERENCIAS

- Achard P, Genschik P (2009) Releasing the brakes of plant growth: how GAs shutdown DELLA proteins. *J Exp. Bot.* 60: 108501092.
- Andrade M, Ayala J, Alia I, Rodríguez H, Acosta C, López V (2008) Effect of germination promoters and substrates in the development of papaya seedlings. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 25: 617-635
- Baskin J, Baskin C (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1-16.
- Boschi C, Benedicto D, Molinari J, Di Benedetto A (1998) La aplicación de ácido giberélico en *Anthurium scherzerianum*. Respuestas sobre el follaje y la inflorescencia. *Rev. Fac. de Agron. (UBA)* 18: 89-92.
- Cavusoglu A, Sulusoglu M (2015) The effects of exogenous gibberellin on seed germination of the fruit species. *DERLEME* 8: 6-9.
- Cervantes G, Lázaro J, Navarro M (2010) Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria* (Cactaceae). *Mem. XVIII Cong. Mexicano de Botánica*.
- Contreras E, Grez J, Gambardella M (2016) Scarification and stratification protocols for raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed germination. *Acta Hort.* 1133: 153-158.
- Deaquiz-Oyola Y, Burgos-Avila Y (2015) Efecto de la aplicación de giberelinas (GA3) sobre germinación de semillas de tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) variedad Santa Cruz. *Conex. Agropec. JDC* 3(2): 29-36.
- Debeaujon I, Koornneef M (2000) Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiol.* 122: 415-424.
- Díaz CA (2011) Categorización de la Latencia en Semillas de Mora (*Rubus glaucus* Benth.), para el Apoyo a Programas de Mejoramiento y Conservación de la Especie. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. 69 p.
- Díaz CA, Lobo M, Cartagena JR, Medina CI (2013) Dormancy and germination of Castilla blackberry seeds (*Rubus glaucus* Benth). *Rev. Fac. Nac. Agron.* 66: 6855-6864.
- Ellis RH, Hong TD, Roberts EH (1985) Rosaceae. Cap. 62 en *Handbook of Seed Technology for Genebanks*. Vol. 2. International Board for Plant Genetic Resources. Roma, Italia. pp: 343-346.
- Fenner M, Thompson K (2005) *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press. Cambridge, RU. 250 pp.
- Finch W, Leubner G (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171: 501-523.
- Gonçalves A, Vilela L, Mendes R, Ferraz L, Kim A, Ferreira R, Rodrigues H (2014) Superación de la latencia de los achenios de la fresa para mejorar la producción de plántulas en programas de mejoramiento. *Idesia* 32(4): 57-62.
- INEN (2010) *Norma Técnica Ecuatoriana. Frutas Frescas. Mora Requisitos. NTE INEN 2427:2010*. <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2427.2010.pdf>.
- Jácome R, Ayala G, Martínez A, Viteri P, Vásquez W, Sotomayor A (2016) Caracterización del sistema de producción, zonas de producción y tipificación de productores del Ecuador. En Galarza D, Garcés S, Velásquez J, Sánchez V, Zambrano J (Eds.) *El Cultivo de la Mora en el Ecuador*. INIAP. Quito, Ecuador. pp. 19-24.
- Jatt T, Suhail M, Abro H, Satar A (2007) Alleviating seed dormancy of *Tectona grandis* L. by temperature, plant growth regulators and inorganic salts. *Pak. J. Bot.* 39: 2581-2583.
- Mandujano M, Golubov J (2007) Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del *Opuntia* (Cactaceae) del desierto Chihuahuense. *Botánica* 52(2): 46-51.
- Manonmani V, Vanangamudi K (2003) Studies on enhancing seed germination and seedling vigour in teak (*Tectona grandis*). *J. Trop. For. Sci.* 15: 51-58.
- Oh E, Yamaguchi S, Kamiya Y, Bae G, Chung WII, Choi G (2006) Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellin in *Arabidopsis*. *Plant J.* 47: 124-139
- Olvera Y, Márquez J, Barradas V, Sánchez M, Orozco A (2003) Germination of the hard seed coated *Opuntia tomentosa* S.D., a cactus from the México valley. *J. Arid Env.*, 55: 29-42.
- Ortega P, Rojas M (2007) Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *J. Arid Env.* 69: 169-176.
- Ramírez M, Hallely S, Regino M, Brigida C, García D (2012) Respuesta a tratamientos pregerminativos y caracterización morfológica de plántulas de *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce* y *Ziziphus mauritiana*. *Pastos y Forrajes* 35: 29-42.
- Rojas M, Casas A, Vázquez C (2001) Seed germination of wild and cultivate *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacan-Cuicatlan Valley, Central Mexico. *J. Arid Env.* 49: 279-287.
- Sánchez-Paz Y, Ramírez-Villalobos M (2006) Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 23: 257-272.
- Siobhan M, McCourt P (2003) Hormone cross-talk in seed dormancy. *J. Plant Growth Regul.* 22: 25-31.
- Tigabu M, Odén P (2001) Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two multipurpose *Albizia* species from Ethiopia. *Seed Sci. Technol.* 29: 11-20.
- Viteri P, Vásquez W, Viera W, Sotomayor A, Mejía P (2016) Ecología para el desarrollo y crecimiento de la Mora. En Galarza D, Garcés S, Velásquez J, Sánchez V, Zambrano J (Eds.) *El Cultivo de la Mora en el Ecuador*. INIAP. Quito, Ecuador. pp. 19-24
- Wada S, Reed B (2011) Optimized scarification protocols improve germination of diverse *Rubus* germplasm. *Sci. Hort.* 130: 660-664.
- Willis C, Baskin C, Baskin J, Auld J, Venable D, Cavender J, Rubio de Casas R (2014) The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytol.* 203: 300-309.