

Efecto de dos tratamientos pre-germinativos y el tiempo de almacenamiento en el Poder Germinativo de las semillas de la *Cinchona officinalis* L.

Effect of two pre-germinative treatments and the storage time on the germinative power of the seeds of *Cinchona officinalis* L.

Miguel Ángel Villar Cabeza¹; Fátima Elizabeth Marcelo Bazán²; Juan Rodrigo Baselly Villanueva²

RESUMEN

La *Cinchona officinalis* L., conocida como Quina o Cascarilla en la actualidad tiene muy poca población producto de la presión que sufrió para la obtención de la Quinina y el aumento de la frontera agrícola. En vista de este problema y en un intento de recuperar esta especie de gran valor se desea obtener una tecnología óptima de propagación. En el presente artículo se evaluó el Poder Germinativo (PG) de semillas en función de 2 tratamientos pre-germinativos (remojo de semillas por 5 días en agua fría permanente y cambiándola diariamente) y a su tiempo de almacenamiento; el material biológico provino de árboles candidatos a semilleros ubicados en la Zona de Amortiguamiento del Bosque de Protección de Pagaibamba - Chota. Determinándose que no existe diferencia del PG entre tratamientos y el testigo, pero el remojo de semillas cambiando el agua diariamente aceleró y homogenizó la germinación. Además, la disminución del P.G. en función al tiempo de almacenamiento puede ser representado por el modelo $\% P. G. = e^{(4.7229 - 0.0496 * meses)} \cdot \epsilon$, que tiene un R^2 de 0.882; estimándose que las semillas de la Quina de los árboles semilleros identificados pierden toda su viabilidad alrededor de los 3 años.

Palabras claves: *Cinchona officinalis* L, semillas, Poder Germinativo, almacenamiento.

ABSTRACT

Cinchona officinalis L., known as Quina or Cascarilla, currently has very little population due to the pressure it suffered to obtain Quinine and the increase in the agricultural frontier. In view of this problem and in an attempt to recover this species of great value it is desired to obtain an optimal propagation technology. In the present article the Germinative Power (PG) of seeds was evaluated according to 2 pre-germinative treatments (soaking of seeds for 5 days in permanent cold water and changing it daily) and to their storage time; the biological material came from trees that are candidates for seedbeds located in the Buffer Zone of the Pagaibamba Protection Forest - Chota. Determining that there is no difference of PG between treatments and the control, but the soaking of seeds changing the water daily accelerated and homogenized the germination. In addition, the decrease in P.G. depending on the storage time it can be represented by the model $\% P. G. = e^{(4.7229 - 0.0496 * meses)} \cdot \epsilon$, which has an R^2 of 0.882; It is estimated that Quina seeds of the identified seed trees lose all their viability around 3 years.

Keywords: *Cinchona officinalis* L, seeds, germinative power, storage.

¹ Responsable del Proyecto Estudio Silvicultural de la Quina "*Cinchona officinalis* L.", en el distrito de Querocoto, provincia de Chota, departamento de Cajamarca.

² Equipo de investigación del Proyecto Estudio Silvicultural de la Quina "*Cinchona officinalis* L.", en el distrito de Querocoto, provincia de Chota, departamento de Cajamarca.

INTRODUCCIÓN

Existen básicamente dos tipos de propagación en las plantas, la sexual a través de semillas y la asexual mediante tejidos vegetales (Osuna *et al.* 2016). Los árboles se reproducen en su mayor parte mediante semillas, recurriendo a éste método de producción para garantizar su dispersión y perpetuación (Navarro s.f.). La semilla es el óvulo maduro y fertilizado contenido en el fruto, estando formada por la testa, endospermo, cotiledón y embrión (Villarreal 1993), para su germinación necesita ser viable, haber desaparecido cualquier barrera física o química y expuesta a condiciones ambientales favorables que se deban al riego y tinguado (Ocaña 1996).

La germinación es el proceso que se inicia con la entrada de agua a la semilla y termina con la elongación del eje embrionario, generalmente la radícula a través de la cubierta seminal, llevándose a cabo en tres fases la imbibición, la activación del metabolismo activo y germinación (Bewley y Black 1994). Sin embargo, las semillas de muchas especies son incapaces de germinar, aun cuando presentan condiciones favorables, debido a que se encuentran en estado de latencia, que es una fase inactiva de la semilla donde los procesos metabólicos se ven reducidos a niveles mínimos para evitar la germinación cuando las condiciones ambientales no son favorables (Koornneef *et al.*, 2002; Fenner y Thompson 2005). Existen muchos tipos de latencia como la física, donde el agua y oxígeno que son indispensables para la germinación no pueden llegar al embrión, porque está protegido por una testa impermeable (Gillis y Muñoz 1985), o como la química donde la producción y acumulación de sustancias químicas inhiben la germinación (Hartmann y Kester 1988; Willan 1991).

Desde el punto de vista del viverista, la latencia impone algunos inconvenientes, como el retraso y la irregularidad en la germinación, por lo que se ha dedicado mucha investigación a idear tratamientos pre-germinativos para eliminarla y asegurar que las semillas germinen con rapidez y de manera uniforme (Varela y Arana 2011). Sin embargo, no todos son eficientes para cualquier especie, debiéndose definir el indicado para cada una (Ocaña 1996; Donoso 1993; ITTO 2014). Uno de los tratamientos es la lixiviación, donde las semillas son remojadas en agua corriente con la finalidad de remover los inhibidores químicos presentes en la cubierta (Vázquez-Yanes 1999; Hartmann y Kester 1988).

Varios países de América presentan un severo proceso de deforestación y fragmentación de sus comunidades vegetales bosques, selvas, vegetación de zonas áridas y semiáridas, dunas costeras y manglares (García *et al.* 2011). El Perú no es la excepción a este problema, la mayoría de sus bosques húmedos de montaña son considerados muy frágiles, pero están siendo amenazados por la rápida colonización en su relativamente escasa extensión forestal (Torres 2013). El árbol más célebre de estos ecosistemas resulta ser el más escaso, la Quina o *Cinchona officinalis* L., siendo considerada por los botánicos como una joya por sus cualidades astringentes, antisépticas, febrífugas, cicatrizantes y tónicas (MINAM 2014). La principal amenaza que sufrió esta especie fue la explotación exagerada para la obtención de su corteza en el siglo XVII, sacrificando la mayoría de los individuos (Anda, 2002) y en la actualidad las poblaciones de Quina son reducidas.

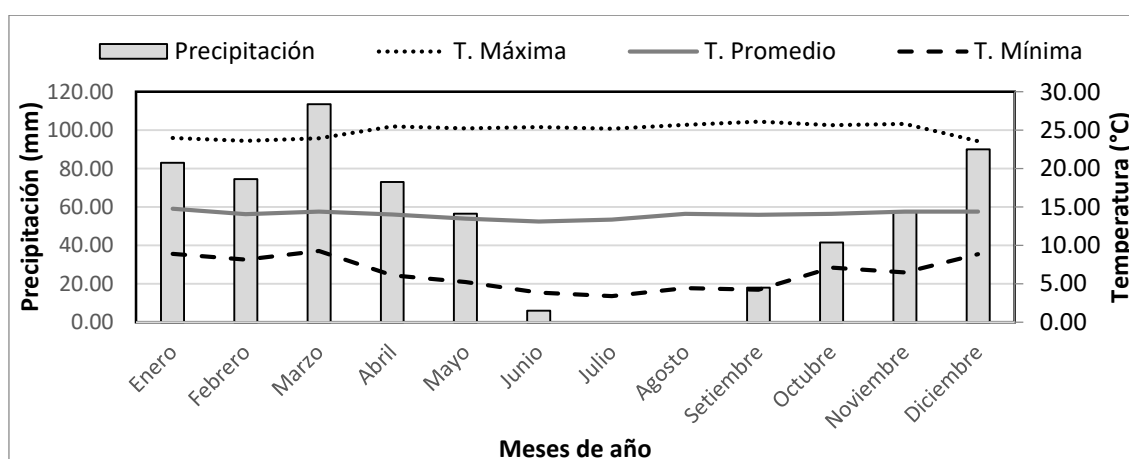
En el presente artículo se estudió el efecto de dos tratamientos pre-germinativos y la estimación del tiempo de viabilidad de las semillas, enmarcado en el objetivo método óptimo de propagación del proyecto de investigación: **Estudio Silvicultural de la Quina "*Cinchona officinalis* L.", en el distrito de Querocoto, provincia de Chota, departamento de Cajamarca.**

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación del área de investigación

Los experimentos se realizaron en las instalaciones del PIA Forestal de la Estación Experimental Agraria Baños del Inca –INIA, ubicado en el distrito de Baños del Inca, provincia de Cajamarca, en las coordenadas UTM 780258 Este y Norte 9207920 de la proyección WGS 84-Zona 17S, y a una altitud de 2695 msnm.

Las condiciones climáticas durante el desarrollo de los experimentos fue de una temperatura promedio de 14.0 °C, mínima de 6.3 °C y máxima de 25.0°C; humedad relativa de 61.2 % y una precipitación anual de 613 mm, siendo los meses con más precipitación de diciembre a mayo.



Gráfica 1. Datos meteorológicos promedio del periodo 2016 – 2018, E.E.A. Baños del Inca.

Metodología

Se seleccionaron 10 árboles candidatos a semilleros de Quina con buenas características fenotípicas (conformación de fuste y copa) y buen estado fitosanitario para la extracción de semillas, su ubicación se muestra en la *Tabla 1*, políticamente estos individuos se encuentran en el Centro Poblado de San Luis del distrito de Querocoto, provincia de Chota; en la Zona de Amortiguamiento del Bosque de Protección de Pagaibamba. Las semillas evaluadas provenían de diferentes fechas de colecta (Cuando los frutos se encontraban maduros y no estaban dehiscentes), las cuales fueron trasladadas a las instalaciones del PIA Forestal donde se realizó el secado, eliminación de impurezas y su almacenamiento por lotes de semillas usando bolsas de papel en un lugar fresco.

Tabla 1. Ubicación de árboles candidatos a semilleros.

Departamento/ Provincia / Distrito / C.P	Código del árbol	Coordenadas UTM 17S – WGS 84		Altitud msnm
		Norte	Este	
	1	9295419	714801	2472
	2	9295372	714790	2489
	3	9295382	714757	2496
Cajamarca/ Chota/	4	9295391	714764	2498
Querocoto / C.P. San Luis	5	9295459	714737	2506
	6	9295800	715069	2614
	7	9295853	715067	2620
	8	9295851	715101	2585
	9	9295872	714937	2709
	10	9295537	714734	2652

Se determinó el efecto de dos tratamientos pre-germinativos en el Poder Germinativo (PG) usando un lote de semillas con 5 meses de almacenamiento, las cuales fueron remojadas por 5 días de las semillas en agua fría permanente (T2) y cambiando el agua diariamente (T3), además del testigo (T1) que no fue sometido a ningún tratamiento, instalándose en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 3 repeticiones por tratamiento, y cada una de estas con 100 semillas. Vásquez (2014) menciona que la validez del resultado obtenido en cualquier ANOVA queda supeditado a los supuestos de normalidad, varianza constante e interdependencia para la variable respuesta; el primer supuesto fue determinado usando el Test de Kolmogorov-Smirnov, el segundo mediante el Test de Bartlett y el tercero es cumplido por el diseño estadístico usado; cumplidos los supuestos se hizo el Análisis de Varianza (ANOVA), siendo realizado el análisis estadístico en el programa SAS 9.4.

Se evaluó además la disminución del PG al almacenar las semillas en bolsas de papel, usándose tres lotes de semillas de diferentes fechas de almacenamiento (5,6 y 17 meses), usando 9 repeticiones por fecha y cada una de estas con 100 semillas. Se ajustó la siguiente regresión para estimar el tiempo de viabilidad de las semillas.

$$\% \text{ germinativo} = e^{\beta_1 + (\beta_2 * \text{dias})} \cdot \epsilon$$

La validación del ajuste se realizó con la prueba de “F” y el de “t” con una significancia de $\alpha \leq 0.05$, y confianza del 95%; y el grado del ajuste fue determinado usando el Coeficiente de correlación (R_{YY}), Coeficiente de determinación (R^2) y Error padrón residual S_{YX} .

RESULTADO

Los resultados obtenidos del PG se muestran en la Tabla 2, donde los tratamientos T2 y T3 tuvieron un porcentaje de germinación de 90 % y 93% respectivamente; siendo estos muy cercanos al Testigo que fue de 94%.

Tabla 2. Poder Germinativo (%) en función a los tratamientos.

Repetición	Tratamiento		
	Testigo (T1)	Agua sin cambiar (T2)	Agua cambiando (T3)
R1	97	88	95
R2	93	95	95
R3	93	88	89
Promedio	94	90	93

Al verificar los supuestos en función a los tratamientos se determinó que en base a la prueba de Kolmogorov-Smirnov (*Tabla 3*) los valores tienen distribución normal en cada tratamiento pues los p-valor son mayores que 0.05. Y usando el Test de Bartlett (*Tabla 4*) se concluye que hay una homogeneidad de varianza entre tratamientos, debido a que el p-valor es de 0.7813, siendo mayor que 0.05.

Tabla 3. Test de Kolmogorov -Smirnov para la bondad de distribución Normal por tratamiento.

Tratamiento	D	Estadístico	Pr > D	p valor
Testigo (T1)	D	0.38481524	Pr > D	> 0.079
Agua sin cambiar (T2)	D	0.38481524	Pr > D	>0.079
Agua cambiando (T3)	D	0.38481524	Pr > D	>0.079

Tabla 4. Test de Bartlett para la homogeneidad de la varianza entre tratamientos.

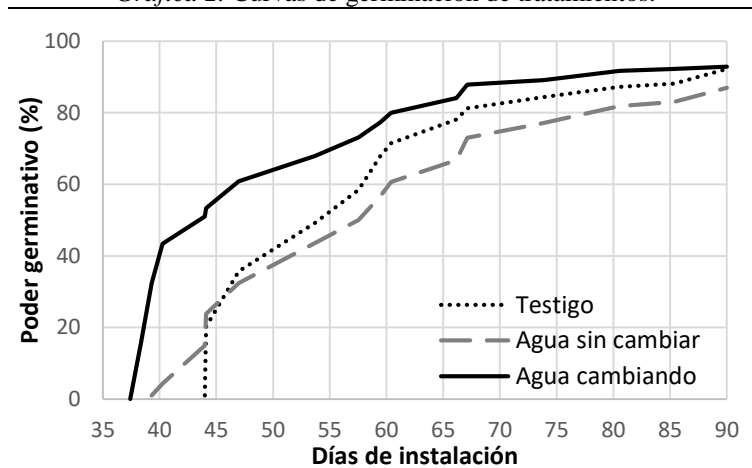
Fuente	DF	Chi-cuadrado	Pr > ChiSq
Tratamiento	2	0.4935	0.7813

Finalmente realizando el Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5%, el p-valor fue de 0.3892 siendo mayor que 0.05; indicando que bajo condiciones similares a las que se presentaron durante el desarrollo del experimento no existirá diferencia significativa entre los tratamientos (*Tabla 5*). Pero con las semillas remojadas cambiando el agua diariamente el inicio de la germinación fue primero (38 días) y en el testigo al último (44 días), al analizar la *Gráfica 2* de germinación el T3 presentó una curva sigmoïdal, siendo más homogénea y estabilizándose en menor tiempo (75 días).

Tabla 5. Análisis de varianza de los tratamientos.

F.V	gl	SC	CM	F	p-valor
Tratamientos	2	24.89	12.44	1.11	0.3892
Error	6	67.33	11.22		
Total	8	92.22			

Gráfica 2. Curvas de germinación de tratamientos.

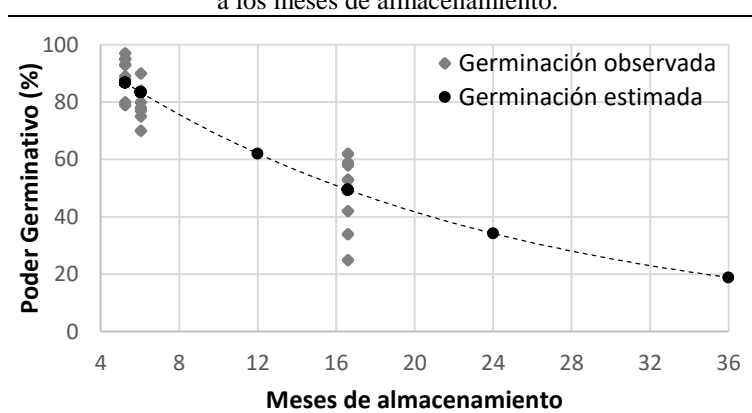


Los porcentajes de germinación entre las tres fechas estuvo entre 52 y 97 %, se puede observar que conforme es más el tiempo de almacenamiento las semillas pierden su viabilidad y es más heterogénea la germinación, *Tabla 6*. Al realizar la regresión esta fue estadísticamente significativa para “F” y “t”. Se obtuvo un R^2 de 0.77, R_{YY} de 0.88 y S_{YX} de 9.387, siendo buenos indicadores estadísticos. La tendencia de pérdida de la viabilidad puede ser expresada mediante el siguiente modelo $P. G. \% = e^{4.7229-0.04962(meses)}$, con este se puede estimar el PG en función a la variable independiente meses de almacenamiento. Usando la regresión se determinó que existe una alta probabilidad que las semillas de la Quina pierdan toda su viabilidad en 3 años, *Gráfica 3*.

Tabla 6. Poder Germinativo de las semillas de Quina en función a los meses de almacenamiento.

Meses de almacenamiento	Repeticiones			Promedio	Desviación estándar	C.V.
5	97	88	95	90	6.55	7.28
	93	80	95			
	93	79	89			
6	90	78	84	80	5.97	7.45
	75	70	84			
	80	84	77			
17	58	59	62	52	13.21	26.53
	53	42	25			
	53	62	34			

Gráficas 3. Poder Germinativo de las semillas de Quina en función a los meses de almacenamiento.



DISCUSIÓN

Caraguay *et al.* (2016) obtuvo para la Quina en Loja-Ecuador un PG promedio de 58%, considerándolo muy bajo. Por otro lado, Conde *et al.* (2017) a nivel de invernadero de entre 20 y 88.33 %. Gonzada y Moncayo (2002) usaron semillas almacenadas en refrigeración por 3 y 6 meses y recién colectadas, obteniendo 0% de germinación. Aponte y Sanmartín (2011), manifiesta que la capacidad germinativa presenta considerables variaciones que con frecuencia obedece a defectos en la semilla, falta de desarrollo del embrión, enfermedades, secado excesivo y edad. En el presente estudio se obtuvieron PG superiores a los reportados por otros estudios en promedio de 92%, la gran variación de resultados obtenidos se puede deber a las condiciones fisiológicas de los árboles y del fruto.

Al no haber diferencia estadística entre tratamientos el PG de las semillas no fue afectado; pero las semillas testigo demoraron en germinar a comparación de las remojadas cambiando el agua diariamente (T3), lo cual indicaría que las semillas de Quina tienen compuestos químicos que retrasan la germinación. El uso de este tratamiento pre-germinativo ayudaría a la reducción de tiempo y homogeneidad de la germinación, facilitando las labores de almacenado y repique.

Moreno, citado por Conde *et al.* (2017), indica que el PG de las semillas de *Cinchona* disminuye considerablemente según el tiempo de almacenamiento. Esto fue observado, pues conforme la semilla tiene más tiempo de almacenamiento fue menor el PG y existió mayor variación en la germinación, por lo cual se debe almacenar las semillas en los primeros meses o antes del año y medio donde se tendría un PG promedio superior al 50%.

CONCLUSIÓN

Se debe tener en cuenta las condiciones fisiológicas de los árboles y la madurez de los frutos en la colecta de las semillas. Se recomienda usar el tratamiento pre-germinativo de remojo de semillas cambiando el agua diariamente y almacenar las semillas de Quina a condiciones normales hasta el año y medio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anda, A. 2002. La Cascarilla. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 192 p
- Aponte, R; Sanmartín, J. 2011. Fenología y ensayos de germinación de diez especies forestales nativas con potencial productivo maderable y no maderable del Bosque Protector “El Bosque”, de la parroquia San Pedro de Vilcabamba – Loja. Tesis Ing. Loja. Universidad Nacional de Loja. 101 p.
- Bewley, J; Black, M. 1994, Seeds, physiology of development and germination, Plenum Press, Nueva York.
- Caraguay, KA; Eras, VH; González, D; Moreno, J; Minchala, J; Yaguana, M; Valarezo, C. 2016. Potencial reproductivo y análisis de calidad de semillas de *Cinchona officinalis* L., provenientes de relictos boscosos en la Provincia de Loja – Ecuador. Rev. Investig. Altoandino, 18 (3): 271 – 280.
- Conde, ME; Moreno, JA; Eras, VH; Patiño, J; González, D; Yaguana, M; Valarezo, C. 2017. Multiplicación sexual y asexual de *Cinchona officinalis* L., con fines de conservación de la especie. Rev. Tzhoecoen 9(1).
- Fenner, M; Thompson, K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University Press. USA. 263 p.
- García C Y; Ramos P, JM; Becerra Z, J. 2011. Semillas Forestales Nativas para restauración ecológica. CONABIO, 94:12-15.
- Gillis M; Muñoz C. 1985. Manual del técnico forestal. Cajamarca, Perú, CICAFOR (Centro de Investigación y capacitación Forestal). 237 p.

- Gonzada G, LE; Moncayo N, MS. 2012. Fenología, producción de hojarasca y ensayos de germinación de las principales especies nativas del bosque protector “El Bosque” parroquia San Pedro de Vilcabamba, Loja. Tesis de Ingeniero Forestal. Loja, Ecuador, Universidad Nacional de Loja. 96 p.
- Hartmann, HT. y Kester, D. 1988. Propagación de Plantas. México D.F. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 760 p.
- ITTO (Organización Internacional de las Maderas Tropicales, Japón). 2014. Vivero forestal para producción de plántones de especies forestales nativas: experiencia en Molinopampa, Amazonas – Perú. Chachapoyas, Perú. 19 p.
- Koornneef, M; Bentsink, L; Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. *Plant Biology* 5:33–36.
- MINAM (Ministerio del Ambiente, Perú). 2014. Perú, reino de bosques. Lima, Perú. 303 p.
- Navarro C, RM. s.f. Biología y descripción de semillas forestales. s.e. 29 p.
- Ocaña, D. 1996. Desarrollo forestal campesino en la región andina del Perú. Lima, Perú. PRONAMACHCS. 220 p.
- Osuna F, HR; Osuna F, AM; Fierro Á, A. 2016. Manual de propagación de plantas superiores. México, Universidad autónoma metropolitana. 91 p.
- Torres, F. 2013. Etnobotánica y sustancias bioactivas de las principales especies no maderables con potencial económico de los bosques de neblina del norte del Perú. Lima, Perú, CIPCA. 9p.
- Villarreal Q, JA. 1993. Introducción a la botánica Forestal. Mexico, Trillas. 150 p.
- Willan, R. 1991. Guía de Manipulación de Semillas Forestales con especial referencia a los Trópicos. Centro de Semillas Forestales de DANIDA. Estudio FAO MONTES 20/2. 510 pp.