



Efecto del ácido giberélico, nitrato de potasio y agua de coco en la germinación de semillas de quina, *Cinchona pubescens*

Effect of gibberellic acid, potassium nitrate, and coconut water on seed germination of *Cinchona pubescens*

Joseph Campos-Ruíz¹, Lisi Cerna-Rebaza de Chico², Julio Chico-Ruíz²

¹Escuela AP de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Laboratorio de Fisiología y Cultivo de Tejidos Vegetales. Facultad de Ciencias Biológicas. UNT.

RESUMEN

Cinchona pubescens Vahl. es una especie forestal de gran valor medicinal, comercial y ecológica que se encuentra distribuido desde Costa Rica hasta el Perú y que, por la alteración de su hábitat y la difícil germinación de sus semillas en campo, se encuentra en peligro de extinción. En el presente trabajo se evaluó el efecto del ácido giberélico, nitrato de potasio y agua de coco en la germinación de sus semillas en material colectado en las montañas del distrito de Colasay (Jaén, Perú). El nitrato de potasio actuó como un promotor en la aceleración de la germinación de las semillas, donde a la concentración de 1000 ppm brindó la más alta tasa en porcentajes de germinación, energía germinativa y valor de germinación; en cambio, el tratamiento con AG3 a las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm actuó como un inhibidor en la germinación de estas semillas; recomendando que no se justifica una alta inversión en la adquisición del ácido giberélico, cuando se puede implementar un sistema fácil y económico, como lo es el tratamiento con KNO₃.

Palabras clave: Germinación, *Cinchona pubescens* Vahl, ácido giberélico.

ABSTRACT

Cinchona pubescens Vahl. is a forest species of high medicinal, commercial and ecological value which is distributed from Costa Rica to Peru. Nowadays is endangered to extinction, mainly due to habitat alteration and the difficult germination of the seed on field. The present study aims to evaluate the effect of gibberellic acid (AG3), potassium nitrate (KNO₃) and coconut water on *C. pubescens* seed germination. Mature and enclosed fruits of *Cinchona pubescens* were collected in the mountains Colasay District (Laurel Branches, the Clarinero and cold water), Jaén. The analysis results show that a batch of 1000 seeds weigh 0.24 grams with a moisture content of 16.67%. Potassium nitrate act as a promoter in the acceleration of seed germination where treatment at a concentration of 1000 ppm gave the highest germination rate, germination energy and germination value, in contrast to treatment with AG3 concentrations of 1000, 2000 and 3000 ppm acted as an inhibitor in the germination of these seeds; recommending is not necessary a high investment in the acquisition of AG3 if you can implement a simple and economic system, as is the treatment with KNO₃.

Keywords: Germination, *Cinchona pubescens* Vahl., plants at risk of extinction.

INTRODUCCIÓN

Considerada como símbolo del patrimonio peruano, *Cinchona pubescens*, denominada “cascarilla”, “árbol de la quina” o “cinchona”, habita en la Cordillera de los Andes, desde Colombia hasta Bolivia; en el Perú, se la encuentra en los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas, Lambayeque, Huánuco, Pasco, Junín, Cusco y Puno, entre los 400 a 3 200 msnm¹.

El árbol de la quina está considerado en el grupo de plantas medicinales de mayor importancia en el mundo debido a que ayudó a combatir las fiebres recurrentes o malaria desde 1949, debido a que su corteza contiene quinina y otros alcaloides fenólicos². En efecto, la quinina, quinidina, cinchonina y cinchonidina han sido registradas como los cuatro principales alcaloides del árbol de la quina, además del ácido quínico, ácido quinotánico y la quinovina; por esta razón, la corteza tiene diversas propiedades terapéuticas, tales como: tónica, anti fermentativa, antipirética, anticeboreica y, por cierto, anti malárica³. Al mismo tiempo, la quina no sólo es reconocida por su valor medicinal, sino también, por su alto valor maderable⁴.

La corteza de la cinchona se viene extrayendo desde hace muchos años, lo que ha conducido a la destrucción de miles de árboles sin que se haya repuesto uno solo; actualmente, los bosques montanos de Jaén y San Ignacio, hábitat natural de esta especie, se han convertido en ecosistemas amenazados por la colonización espontánea y la extracción y comercialización de madera, haciendo que desaparezcan los pocos árboles que aún quedan⁵.

En general, la semilla es uno de los principales recursos para el manejo agrícola y silvícola de las poblaciones de plantas, para la reforestación, para la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas sobreexplotadas; éstas pueden almacenarse vivas por largos periodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas⁶, no obstante, las semillas de cinchona no pueden ser guardadas por largos periodos de tiempo porque rápidamente pierden su viabilidad⁷. Ante esto, se ha propuesto que las semillas deben almacenarse a una temperatura de 6-8 °C, en ambiente húmedo y utilizarse tratamientos pregerminativos^{8,9,10}.

El ácido giberélico y los compuestos nitrogenados figuran entre las sustancias que pueden ser aplicadas a las semillas en tratamientos pregerminativos para romper la dormición¹¹. La aplicación exógena de hormonas suplementa los requerimientos del control endógeno de las semillas reduciendo el tiempo de estratificación necesario para su germinación y los compuestos nitrogenados estimulan de diferentes formas la germinación de semillas produciendo diversos efectos en varias especies, por lo que no existe un acuerdo generalizado que explique su mecanismo de acción^{12,13}.

Las giberelinas desempeñan un papel importante en dos etapas de la germinación de las semillas: en la primera, actúan en la inducción de enzimas y en la segunda, activan las enzimas que intervienen en la movilización del sistema de alimentos de reserva; al mismo tiempo, tienen efecto sobre la elongación del tejido embrionario alterando la extensibilidad de la pared celular que facilita la toma de agua^{14,15,16}.

Hartman y Kester¹⁷ sostienen que muchas semillas recién cosechadas y en letargo germinan mejor después de ser remojadas en una solución de nitrato de potasio al 2% y Ovalles et al.¹⁸ señalan que el agua de coco, *Cocos nucifera*, contiene citoquinina que es una fitohormona que entre otras funciones promueve la ruptura de la dormancia y la germinación de semillas al estimular la elongación de las células de los cotiledones en respuesta a la luz.

En Trujillo (Perú), ubicado al nivel del mar, se encontró que semillas de *Cinchona* sp. procedente del centro poblado de La Cascarilla-Jaén, con sustratos de suelos originarios, mostraron un tiempo de germinación de semillas variable entre 13 y 25 días, independientemente de la procedencia de los distintos lugares del mencionado poblado, que un 30-50 % de semillas (de un total de 100 ensayadas por recipiente) logran germinar bajo estas condiciones, y que la humedad y el calor favorecen el proceso germinativo; asimismo, se obtuvieron buenos resultados con semillas de *C. officinalis* a las cuales se aplicó tratamientos pre germinativos con ácido giberélico y nitrato de potasio^{19,20}.

Considerando que las semillas de *C. pubescens* presentan dificultades en su germinación porque están influenciadas directamente por la maduración fisiológica y porque de cada 1000 semillas sólo germinan un promedio de 50 semillas empleando como sustrato suelo del bosque natural^{20,21}, se planteó esta investigación dirigida a evaluar el efecto del ácido giberélico, nitrato de potasio y agua de coco en la germinación de las semillas de esta importante especie vegetal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- Semilla botánica de *C. pubescens* Vahl. de un mes de cosechado, procedente del distrito de Colasay, provincia de Jaén, Departamento de Cajamarca, Perú.
- “Agua de coco” obtenida de cocos maduros, *Cocos nucifera*, adquirida en mercados de Trujillo. El agua de coco tiene un alto contenido en potasio, antioxidantes, citoquininas, L-arginina, ácido ascórbico, y magnesio.

Recolección del material biológico

Las semillas de *C. pubescens* Vahl fueron seleccionados por sus mejores características fenotípicas encontradas en los montañas naturales de las montañas de los sectores el Laurel, el Clarinero y aguas frías del distrito de Colasay (5° 58'31" LS, 79° 3'31" LO), cuya altitud es de 1775 m.s.n.m., entre marzo y setiembre del 2013.

Los frutos se recolectaron es estado maduro y semimaduro presentando un color marrón y pardo, respectivamente. Se recolectó un promedio de 5 kg y luego se empacaron en bolsas de tela para su posterior transporte a las instalaciones del laboratorio de Fisiología y Cultivos de Tejidos Vegetales de la Universidad Nacional de Trujillo donde se realizó la investigación. Una muestra de hojas, frutos y tallos fueron enviados al Museo de Historia Natural de San Marcos (UNMSM), Lima y al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (HUT) para su determinación.

Secado de los frutos, selección, desinfección y siembra

Se hizo al aire libre durante tres días, para lo cual fueron colocados en una tela y removidos constantemente para obtener un secado homogéneo. Los frutos secados al aire libre fueron seleccionados teniendo en cuenta su estado fitosanitario y las de mejor apariencia. Una vez seleccionados los frutos se realizó el proceso de desinfección que consistió en lo siguiente: se lavaron en una solución de detergente, enjuagándolas luego con agua corriente, luego en la cámara de flujo laminar se manipuló el fruto en condiciones de máxima asepsia utilizando mandil, mascarilla, gorro quirúrgico y guantes de goma desechables. Dentro de la cámara de flujo laminar se procedió a remojar el material vegetal en una solución de alcohol al 70 % por 1 minuto y luego se dejó 2 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 2%, después se lavó 3 veces con agua estéril. Seguidamente, con la ayuda de pinzas y bisturís (previamente esterilizados) se manipuló el fruto dentro de la cámara de flujo laminar realizando cortes longitudinales, quedando las semillas expuestas (Fig. 1a); luego, con la ayuda de una espátula pequeña se depositó cincuenta semillas por cada placa Petri, y se trasladaron las placas a la sala de incubación.

Preparación de las placas Petri para el ensayo de germinación

Los ensayos de germinación fueron realizados a nivel de laboratorio, con luz y temperatura ambiente, se utilizaron placas Petri de 7.5 cm de diámetro previamente esterilizadas. Las semillas se distribuyeron en las placas Petri sobre papel toalla humedecido con las sustancias requeridas a utilizar según tratamientos, colocando 50 semillas por unidad experimental con 3 repeticiones por tratamiento. La distribución de los tratamientos en el laboratorio se realizó de acuerdo al diseño estadístico completamente aleatorizado.

Tratamientos y diseño experimental

La unidad experimental estuvo constituido por 50 semillas de *Cinchona pubescens* Vahl. y el total de semillas utilizadas fueron 1 500 semillas. El ácido giberélico utilizado fue obtenido de un regulador de crecimiento comercial denominado ACTIVOL, en donde el ingrediente activo es Ácido giberélico (9.4 %). El KNO₃ utilizado fue un fertilizante proveniente del laboratorio de Fisiología y Cultivos de Tejidos Vegetales. La presente investigación es del tipo experimental, bajo el diseño completamente aleatorizado (DCA), con 10 tratamientos y 3 repeticiones.

Evaluaciones y registros

Se determinó el peso de 1000 semillas por gramo y el contenido de humedad que hay en estas. Se evaluó diariamente el desarrollo de las semillas durante 40 días, y se consideró como indicador de la germinación la aparición del ápice de la radícula. Los parámetros germinativos que se evaluaron fueron: porcentaje de germinación, energía germinativa (EG) y el valor de germinación (VG).

Tabla 1. Número de tratamientos, soluciones y concentraciones empleadas en semillas de *Cichona pubescens* procedente de Jaen (Perú)

Tratamientos	Solución /concentración
T1	AG ₃ (1000 ppm)
T2	AG ₃ (2000 ppm)
T3	AG ₃ (3000 ppm)
T4	KNO ₃ (1000 ppm)
T5	KNO ₃ (2000 ppm)
T6	KNO ₃ (3000 ppm)
T7	AGUA DE COCO (30 %)
T8	AGUA DE COCO (50 %)
T9	AGUA DE COCO (70 %)
T10	TESTIGO

- Porcentaje de germinación.

Para medir el porcentaje se utilizó la fórmula:

$$\% \text{ de germinacion} = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{N^{\circ} \text{ de semillas sembradas}} \times 100$$

- Energía germinativa (EG %).

La energía germinativa se refiere al porcentaje de semilla que ha germinado durante una prueba, hasta el momento en que la cantidad de semilla que germina por día ha llegado a su máximo. La cantidad de días requeridos para alcanzar este máximo es el período energético. Por lo general, las plántulas que se originan de las semillas que germinan dentro del período energético constituyen el stock de plantación de mejor calidad.

$$\text{Energía germinativa (EG \%)} = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas diariamente}}{N^{\circ} \text{ de semillas puestas a germinar}} \times 100$$

- Valor de germinación (VG).

Es la capacidad germinativa de un lote de semillas para poder formar plántulas en condiciones desfavorables para la semilla (Thomson 1979). Tiene por finalidad combinar en una sola cifra una expresión de la germinación total al término del período de ensayo y una expresión de la energía o velocidad de germinación (Czabator, 1962)

El valor de germinación (VG) puede por tanto calcularse mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Valor de germinacion (VG)} = \text{GDM (final)} \times \text{VM}$$

Donde:

GDM (Germinación diaria media): La germinación total se expresa en forma de germinación diaria media (GDM) (final), que se calcula como el porcentaje acumulado de semillas germinadas al final del ensayo dividido por el número de días que transcurren desde la siembra hasta el término del ensayo.

$$\text{GDM} = \frac{\% \text{ de germinación total}}{N^{\circ} \text{ de días totales del ensayo}}$$

VM (Valor máximo): La velocidad de germinación se expresa en forma de valor máximo (VM). Es el cociente máximo entre el porcentaje de germinación acumulado hasta un periodo determinado y el número de días en que se logró dicho porcentaje. A su vez, el Valor Máximo (VM) determina la Energía Germinativa (porcentaje de germinación acumulado en el día en que se produce el VM) y el Período de Energía (número de días en que ocurre el VM)

$$\text{VM} = \frac{\% \text{ EG}}{\text{PEG}}$$

PEG: Período de la energía germinativa.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados utilizando estadísticos ANAVA y TUKEY.

RESULTADOS

Las semillas de *C. pubescens* Vahl. presentaron un porcentaje de humedad de 16.67 % en 1 000 semillas que pesaron 0.24 g. Se encontró que el KNO₃, seguido del agua de coco indujo a los mayores porcentajes de germinación (Tabla 2, Figs. 2 y 3)

Se encontró, igualmente, que KNO₃ a sus diferentes concentraciones indujo los mayores porcentajes de energía germinativa (Tabla 3, Fig 4). En el mismo sentido, KNO₃ a sus diferentes concentraciones indujo los mayores porcentajes de energía germinativa (Tabla 4, Fig. 5)

Tabla 2. Porcentaje de germinación de las semillas de *Cinchona pubescens* “quina” en los diferentes tratamientos, a los 40 días, con ácido giberélico (AG₃), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera* (ACN)

Tratamientos	Promedio de semillas germinadas	% de germinación
T1: AG ₃ (1000 ppm)	16.67	33.34
T2: AG ₃ (2000 ppm)	0	0
T3: AG ₃ (3000 ppm)	0	0
T4: KNO ₃ (1000 ppm)*	45.33	90.67
T5: KNO ₃ (2000 ppm)	44.67	89.94
T6: KNO ₃ (3000 ppm)	42	84
T7: ACN (30 %)	33	66
T8: ACN (50 %)*	35.67	71.34
T9: ACN (70 %)	27.67	55.44
T10: Testigo	42.33	84.66

*p<0,05

Tabla 3. Energía germinativa de las semillas de *Cinchona pubescens* “quina” tratadas con ácido giberélico (AG₃), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*, (ACN) evaluada durante 40 días.

Tratamientos	Germinación (días)		Repeticiones			Prom.	% EG
	Inicio	Término	R1	R2	R3		
T1: AG ₃ (1000 ppm)	13	24	14	15	19	16	32
T2: AG ₃ (2000 ppm)	0	0	0	0	0	0	0
T3: AG ₃ (3000 ppm)	0	0	0	0	0	0	0
T4: KNO ₃ (1000 ppm)	12	23	43	41	49	44.33	88.66
T5: KNO ₃ (2000 ppm)	11	22	45	39	45	43	86
T6: KNO ₃ (3000 ppm)	13	23	43	44	38	41.67	83.34
T7: ACN (30 %)	13	28	31	35	28	31.33	62.66
T8: ACN (50 %)	15	30	30	35	38	34.33	68.66
T9: ACN (70 %)	17	33	21	32	25	26	52
T10: Testigo	12	24	43	44	40	42.33	84.66

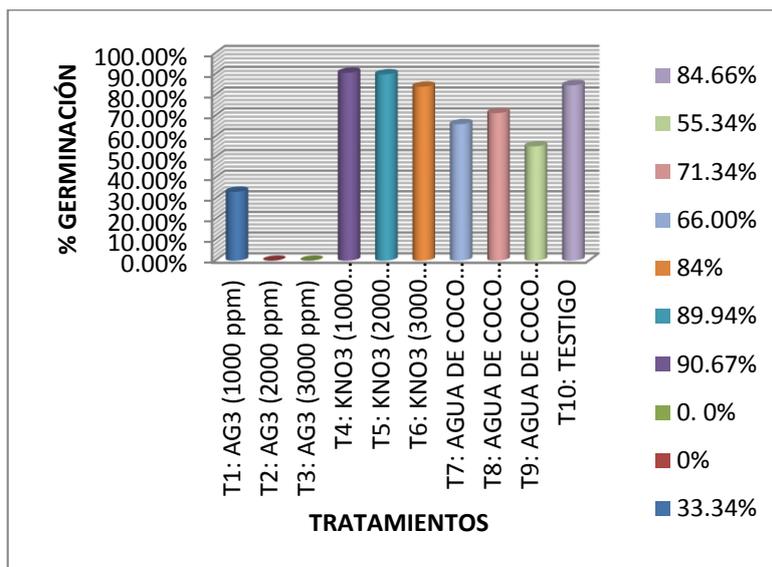


Fig. 1. Porcentaje de germinación de semillas de *Cichona pubescens* Vahl., según tratamiento, con ácido giberélico (AG3), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*. Se aprecia el consolidado de los tratamientos con sus respectivos porcentajes de germinación.

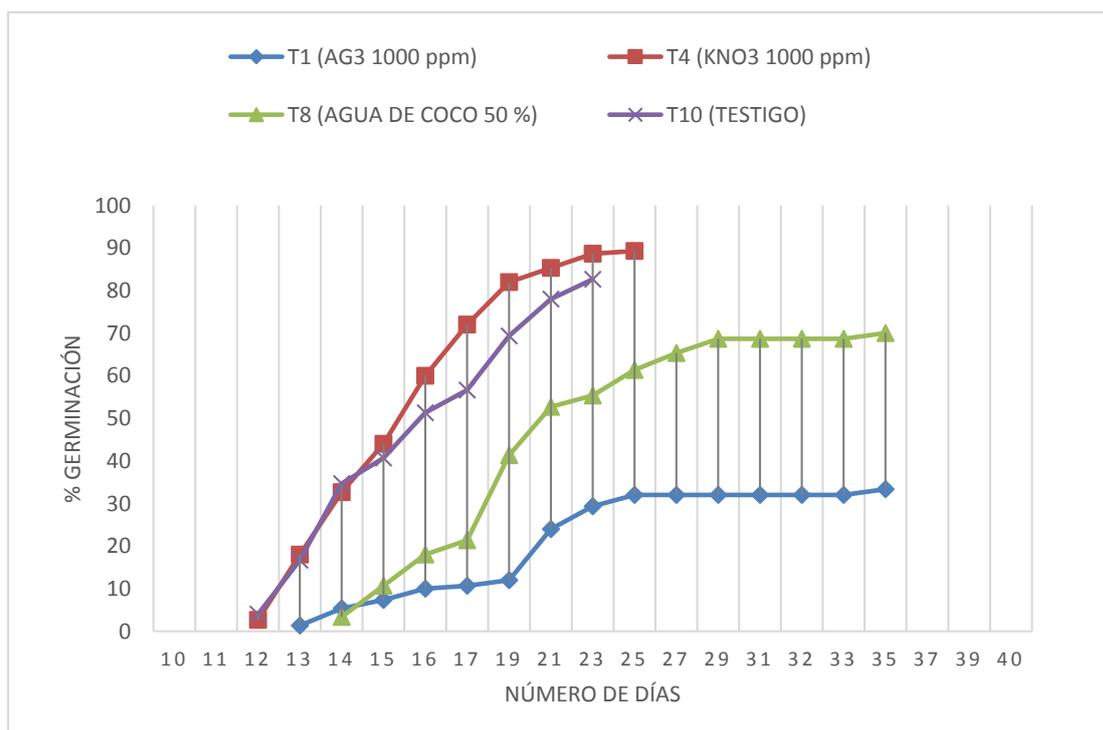


Fig. 2. Curva de germinación diaria de semillas de *Cinchona pubescens* Vahl., por tratamientos durante 40 días, tratadas con ácido giberélico (AG3), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*.

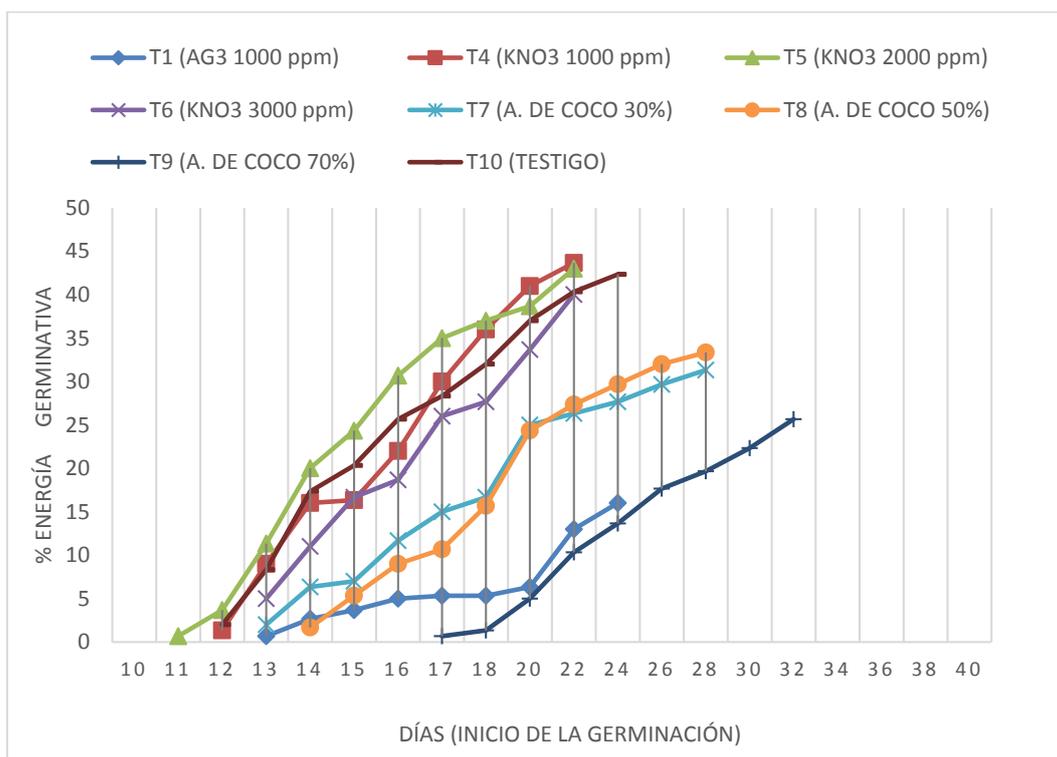


Fig. 3. Curva de la energía germinativa diaria porcentual de semillas de *C. pubescens* Vahl., según tratamiento, tratadas con ácido giberélico (AG3), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*, (ACN).

Tabla 4. Valor de la germinación de la semilla de *Cichona pubescens* “quina” durante 40 días, tratadas con ácido giberélico (AG3), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*, (ACN).

TRATAMIENTOS	% PG	% EG	PEG días	VM	GDM final	VG (VM x GDM)
T1	33.34	32	24	1.33	0.95	1.264
T2	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0
T4	90.67	88.66	23	3.85	3.49	13.436
T5	89.94	86	22	3.91	3.46	13.529
T6	84	83.34	23	3.62	2.33	8.435
T7	66	62.66	28	2.24	1.83	4.099
T8	71.34	68.66	30	2.29	1.93	4.419
T9	54.74	52	33	1.58	1.52	2.402
T10	84.66	84.66	24	3.53	3.53	12.461

PG: Porcentaje de germinación, EG: Energía germinativa, PEG: Periodo de energía germinativa, VM: Valor máximo, GDM final: Germinación diaria media final, VG: Valor de germinación.

DISCUSIÓN

A la hora de analizar los resultados obtenidos, se determinó que las semillas de *C. pubescens* presentaron un contenido de humedad del 16.67% porcentaje un poco más elevado comparándolo con *C. officinalis* cuyo porcentaje de humedad fue de 12.5%²⁰. Estos resultados son corroborados en otra investigación, en donde se menciona que la estructura de las semillas de las latifoliadas en el momento de la caída de las semillas tiene un contenido de humedad entre los rangos del 10 hasta el 40 de humedad²².

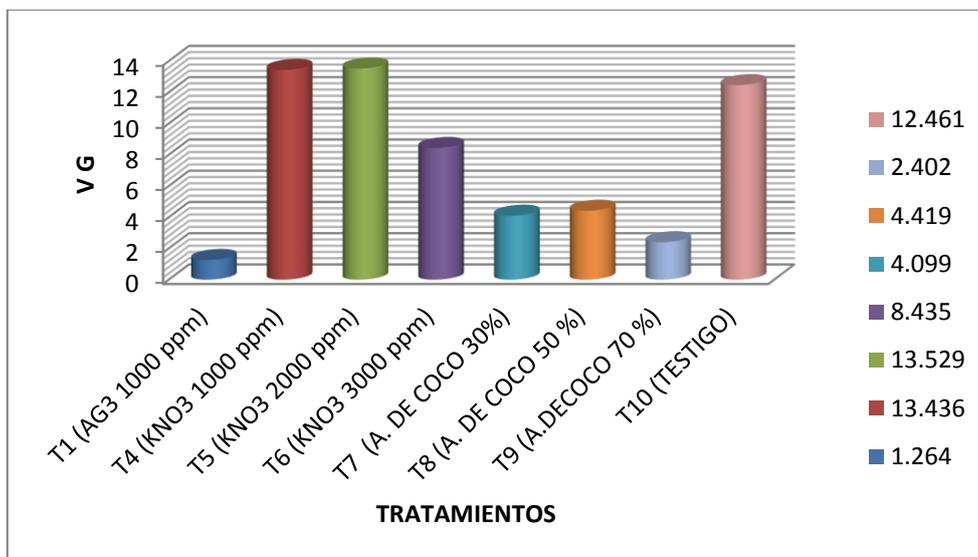


Fig. 4. Valor de la germinación (VG) de semillas de *C. pubescens* Vahl., según tratamiento, tratadas con ácido giberélico (AG₃), nitrato de potasio (KNO₃) y agua de coco, *Cocos nucifera*.

Se determinó que un lote de 1 000 semillas pesan 0.24 g, un número alto de semillas con un peso demasiado bajo; estos resultados son similares a los obtenidos previamente con *C. officinalis* en donde mil semillas pesaban 0.9 g¹⁸ y las registradas por ANACAFE²⁰ mencionando que 1 000 semillas de *Cinchona* sp. pesaban 0.11 g probablemente se refiera a otra especie de este género.

Los recursos de una planta para producir semillas son limitados, así que cierta cantidad de energía disponible para producirlas puede traducirse en un gran número de semillas pequeñas o en un número menor de semillas grandes; el número producido y su tamaño afectarán la capacidad de sobrevivencia y perpetuación de las especies; las plantas que producen muchas semillas pequeñas se distribuyen ampliamente y tienen mayores oportunidades de encontrar un sitio favorable para germinar y crecer, sin embargo, su tamaño aporta poco al crecimiento de la nueva planta y esta depende muy pronto de los recursos disponibles en su medio, por lo que su riesgo de morir es muy alto, también tienen menor resistencia a los efectos de la defoliación por herbívoros y pueden ser aplastadas fácilmente por la hojarasca que cae al suelo, aunque esto se compensa de alguna manera por el gran número, solo una pequeña fracción sobrevive a todos esos accidentes^{22,23,24}.

El lote de semillas del tratamiento testigo (T10) dio un 84.66 % de germinación superiores a los encontrados anteriormente²⁰ (66.67%) utilizando como sustrato algodón para las semillas de *C. officinalis* y 30-50 % de germinación con semillas de *Cinchona* sp. con sustratos de suelos originarios y sin aplicación de tratamientos²⁰.

Las concentraciones con ácido giberélico (AG₃) a 1000, 2000 y 3000 ppm no han influenciado en la germinación de semillas de *C. pubescens* obteniendo valores de germinación del 33.34 %, 0% y 0% respectivamente. Estos valores son realmente muy bajos a comparación del testigo, y de los resultados previos trabajados con semillas de *C. officinalis* a las concentraciones de 1000 y 2000 ppm de AG₃ arrojándole 88.67 y 83.33% respectivamente²⁰. Al respecto, se ha constatado que semillas de maracuyá escarificadas y tratadas con 300 ppm de AG₃ tuvo un efecto fitotóxico, lo cual prueba que el ácido giberélico a altas concentraciones es inhibidor de la germinación para ciertos tipos de semillas^{24,25}.

Teniendo en cuenta que *C. pubescens* es una especie caducifolia, cuyas semillas requieren generalmente de hormonas entre ellas el ácido giberélico para asegurar su germinación y romper el letargo¹⁷, es necesario entonces poder determinar la concentración óptima de ácido giberélico en la aplicación exógena para las semillas de del género *Cinchona*²⁶.

El nitrato de potasio (KNO₃) a las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm dieron los más altos porcentajes siendo 90.67%, 89.94% y 84% respectivamente. Estos resultados fueron casi similares a los obtenidos²⁰ (82.67% y 82% a 1000 y 2000 ppm de KNO₃). El efecto observado con nitrato de potasio es bien conocido en otras especies^{26,27}; sin embargo, no existe un acuerdo generalizado que explique su mecanismo de acción¹³.

Resultados en germinación de las semillas de caoba (*Swietenia macrophylla* King), cedro rojo (*Cedrela odorata* L) y roble (*Tabebuia rosea* (Bertol), mostraron que el patrón de respuesta al tratamiento con agua de coco fue similar en las tres especies²⁸. Conforme el grado de madurez del coco fue mayor (de tierno a seco) la germinación fue menor ($P < 0.05$) indicando que el agua de coco perdió efectividad en promover mayor germinación, así en los tres árboles la máxima ($P < 0.05$) germinación se encontró en semillas con inmersión en agua de coco tierno, la mejoría en germinación fue de 10, 7 y 2 veces con respecto a la encontrada con agua de coco, seco en caoba, cedro y roble, respectivamente. Ovalles et al.¹⁸ señalan que el agua de coco (*Cocos nucifera* L) es rica en nutrientes y su composición específica depende de la madurez del fruto, a menor madurez mayor concentración de nutrientes. El agua de coco contiene citoquinina, fitohormona que entre otras funciones promueve la ruptura de la dormancia y la germinación de semillas al estimular la elongación de las células de los cotiledones en respuesta a la luz²⁹.

Si bien es cierto los resultados expresados en porcentajes de germinación de los tratamientos con KNO_3 (90.67%) y el testigo (84.66) no muestran diferencias estadísticas según la prueba de TUKEY; aun así, se puede afirmar con mucho criterio de acuerdo a lo experimentado y observado en la investigación, que existe gran ventaja en la utilización de uno de ellos; dado que las semillas germinadas con nitrato de potasio al mes desarrollan plántulas más vigorosas comparándolas con el testigo (anexo 8), y esto da un ventaja para su posterior trasplante a un sustrato más estable.

El inicio de la curva de germinación diaria encontrada (12 días) varía en algo respecto de las investigaciones llevadas a cabo con semillas de *Cinchona* sp.¹⁹, que germinaron a partir de los 13 días, y de *C. officinalis* que, en promedio, iniciaron la germinación a los 15 días²⁰. Segura²¹, experto en forestales, menciona que las semillas de *C. pubescens* presentan dificultades en su germinación, las cuales están influenciadas directamente por la maduración fisiológica de las semillas, y hay que tener en cuenta el momento óptimo de recolección de este tipo de semillas. Según sus experiencias, de cada 1000 semillas de *Cinchona* sp. germinan un promedio de 50 semillas empleando suelo de bosque natural como sustrato y en donde la germinación empieza a los ocho días.

El periodo de la Energía germinativa de las semillas de *C. pubescens* por tratamientos aplicados, siendo los valores más altos para los tratamientos con KNO_3 (88.66, 86, 83.34) juntamente con el testigo (84.66); los valores medios para los tratamientos con agua de coco (62.66, 68.66 y 52) y los más bajos para el AG_3 (32). La energía germinativa es el concepto más importante para cuantificar el valor de germinación y un factor de gran importancia para las especies forestales debido a la alta competencia que se presenta, principalmente en las primeras etapas de crecimiento; es decir, el aumento de la energía germinativa y una disminución en el periodo de esta permite que las plántulas originadas de las semillas que lograron germinar dentro de este período energético constituyan el stock de plantación de mejor calidad^{30,31}. En concordancia con ello, el valor de germinación en las semillas de *C. pubescens* aumenta con la aplicación del KNO_3 a las concentraciones de 1000 y 2000 ppm respectivamente; es decir, esta sustancia tiene efectos que estimulan la germinación rápida de las semillas de quina, esto se reflejó en un Valor germinativo mayor que el de los otros tratamientos ensayados. El valor de germinación es diferente en cada especie; por ejemplo, en *Pinus leiophylla* alcanza valores del 30.70, en cambio en *Ononis tridentata* alcanza valores de 2.6 y en *Juglans neotropica* “cedro negro” valores de 0.45^{28,29}.

Existe escasa información de ensayos en la germinación para esta especie, por lo que es de importancia que se siga investigando al respecto para poder entender mejor el comportamiento de la germinación de *Cinchona pubescens* Vahl. y otras especies pertenecientes al género *Cinchona*.

CONCLUSIONES

- La germinación de semillas de *Cinchona pubescens* Vahl “quina”, es mayor al 90 % cuando se utiliza nitrato de potasio.
- El Porcentaje de germinación, energía germinativa y valor de germinación cuando se utiliza ácido giberélico a la concentración de 1000 ppm es de 33.34 %, 32 % y 1.264 respectivamente.
- El Porcentaje de germinación, energía germinativa y valor de germinación cuando se utiliza nitrato de potasio a la concentración 1000 ppm es de 90.67 %, 88.66 % y 13.436 respectivamente.
- El Porcentaje de germinación, energía germinativa y valor de germinación cuando se utiliza agua de coco a la concentración del 30 % es de 66 %, 62.66 % y 4.099 respectivamente.

- El análisis de varianza muestra diferencias significativas entre los tratamientos y la prueba de Tukey muestra que los mejores tratamientos son T4 (KNO₃ 1000 ppm), T10 (Testigo) y T8 (Agua de coco 50 %); pero el que presenta mayor ventaja entre ellos es el tratamiento con KNO₃ 1000 ppm.
- Un lote de 1000 semillas de *Cinchona pubescens* Vahl. pesaron 0.24 gr. con un porcentaje de humedad del 16.67 %.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zevallos PP. Taxonomía, distribución geográfica y estatus del genero *Cinchona* en el Perú. Lima, Perú: Centro de Datos Para la Conservación (CDC). Edit. Virginia Isayama Okamoto. 1989.
2. Stell R. Flores para el Rey. Barcelona: Edit. Del Serbal. 1982.
3. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Trujillo, Perú: Edit. Normas Legales SAC. 2002.
4. Acosta S. Maderas económicas del Ecuador y sus usos. Quito: Edit. Casa de la cultura. 1960.
5. Tapia A. Germinación de semilla botánica de *Cinchona officinalis* L. utilizando cinco tratamientos pregerminativos. Tesis de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional de Cajamarca. Jaén, Perú. 2007.
6. Trujillo E. Manejo de semillas, viveros y plantación inicial. Bogotá: Edit. PRINTER. 1990.
7. Ascon-Bieto J, Talon M. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Madrid: Edit. Interamericana-McGraw-Hill. 2001.
8. Trujillo E. En el Curso Nacional "Recolección y Procesamiento de Semillas Forestales". Campus de Adefor (8-10 oct. 1996). ADEFOR, RASEFOR, INTERCOOPERATION, CONIF/INSEFOR. Cajamarca, Perú. 1996.
9. Donoso C. Bosques Templados de Chile y Argentina. Variación, Estructura y Dinámica. Santiago de Chile: Edit. Universitaria. 1993.
10. Arnold FE. Manual de vivero forestal: Elaborado para algunas especies forestales nativas de la zona templada del Sur de Chile. Documento Técnico CONAF-DED. 1996.
11. ISTA. International Seed Testing Association. International rules for seed testing. Zurich. Supplements rules. 27. 2006.
12. Lincoln T, Zeiger E. Fisiología Vegetal. Castello Publicaciones. Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. 2006.
13. Bewley J, Black M. Fisiología y Bioquímica de Semillas en el Proceso de Germinación. Vol. 2: Viabilidad, Dormancia y control ambiental. New York: Edit. Springer-Verlag. 1982.
14. Hartmann H, Kester D. Propagación de plantas. Principios y prácticas. México, DF: Compañía Editorial Continental, S.A. de C. V. 1998.
15. Hong DT, Ellis RH. A protocol to determine seed storage behavior. Department of Agriculture, The University of Reading, UK. 1996.
16. Hilhorst HWM, Karssen YCM. Effects of chemical environment on seed germination. En: Fenner M. (ed.), Seeds: the ecology of regeneration in plants communities. UK: CAB International. 2000; pp. 293-309
17. Harper JL. Population Biology of Plants. London: Academic Press. 1977.
18. Ovalles JF, León LA, Vielma RA, Medina A. Determinación del contenido de aminoácidos libres del agua de coco tierno por HPLC y revisión electrónica sobre la nueva tecnología para el envasado del agua de coco. Revista de la Facultad de Farmacia, Universidad de los Andes. Mérida, R. B. de Venezuela 2002; 44: 70-78.
19. Theodore W, Helms J, Backer F. Principios de Silvicultura. 2a ed. México: Edit. Mc Graw-Hill Latinoamericana. 1982.
20. ANACAFE (Asociación Nacional del café). Cultivo de Quina: Programa de Diversificación de Ingresos en la Empresa Cafetalera. 2004.
21. Vázquez Y, Orozco A, Rojas M, Esther S, Cervantes V. Semillas. México, DF: Edit. Fondo de Cultura Económicas S. R. 1997.
22. Rosseto C, Coneglian R, Nakagawa J, Shimizu M, Marin V. Germinacao de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em funcao de tratamento pre-germinativo. Rev Bras Sementes 2000; 22(1): 247-252
23. Devlin RM, Karczmarczyk SJ. Influence of light and growth regulators on cranberry seed dormancy. J Hort Sci 1977; 52: 283-288
24. Taiz L, Zeiger E. Plant physiology. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers. 1998.
25. Czabator FP. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. Forest Science 1962; 8(4): 386-396
26. Escribá M, Laguna E. Estudio de la germinación de *Ononis tridentata* L. Acta Botanica Malacitana 2006; 31: 89-95

27. Santos A, Armijos R. Modificación de nutrientes y agentes osmóticos sobre la alimentación del crecimiento In vitro de *Cinchona officinalis*, L. como herramienta de conservación. Instituto de Ecología - Unidad de Fisiología Vegetal. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador. 2011.
28. Schmidt L. Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark. 2000.
29. Torres J, Mogollón N. Micropropagación de *Cattleya mossiae* Parker ex Hook mediante brotaciónaxilar inducida por tiazurón. Bioagro 2000; 12(1): 10-14.