

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**



**“ANATOMÍA Y GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE CHIRIMOYA  
(*Annona cherimola* Miller)”**

**Presentada por:**

**ROBISSON WILFRIDO CEME MACÍAS**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO MAGISTER  
SCIENTIAE EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**Lima – Perú  
2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**“ANATOMÍA Y GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE CHIRIMOYA  
(*Annona cherimola* Miller)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO MAGISTER  
SCIENTIAE EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**Presentada por:**

**ROBISSON WILFRIDO CEME MACÍAS**

**Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:**

**M.Sc. Andrés Casas Díaz  
PRESIDENTE**

**Ph.D Hugo Soplín Villacorta  
PATROCINADOR**

**Mg. Sc. Julián Chura Chuquiya  
MIEMBRO**

**Mg. Sc. Cecilia Emperatriz Figueroa  
MIEMBRO**

**A la memoria de mi abuelita Hermencia  
Betancour, a quien siempre la llevare en  
mi corazón**

## **DEDICATORIA**

Esta investigación se la dedico:

En primer lugar. A Dios todo poderoso que me dio la oportunidad de vivir, la salud, la sabiduría y supo brindarme fuerza para superar obstáculos y salir adelante en un camino tan difícil.

De una manera muy especial, a mi esposa, quien me brindó su apoyo y confianza durante el tiempo que estuve realizando mis estudios.

A mi hijo Alejandro Ceme, que es la luz que me alumbra para seguir adelante, siendo el apoyo fundamental en mi vida y el motivo para superarme cada vez más.

Finalmente, a mis familiares y amigos que me apoyaron.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios: a la madre tierra y a nuestra patria gloriosa, que nos permite estar en este universo infinito.

A la Universidad Nacional Agraria La Molina y a sus docentes, que contribuyeron en mi formación profesional.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) por su apoyo invaluable en la realización de la presente investigación.

Al Ph.D Hugo Soplín Villacorta, patrocinador, por su valioso aporte académico en la ejecución de este trabajo y a los miembros del jurado Mg. Sc. Cecilia Emperatriz Figueroa y Mg. Sc. Julián Chura Chuquiya

A todas las personas que, durante todo este tiempo, de una u otra forma, me han apoyado en el desarrollo de la tesis.

# ÍNDICE GENERAL

I	INTRODUCCIÓN .....	1
II	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1.	Origen y distribución .....	4
a.	Origen .....	4
b.	Zonas de producción.....	4
2.2.	Características taxonómicas y botánicas de la planta .....	4
a.	Taxonomía .....	4
b.	Descripción botánica.....	4
2.3.	Biología floral de la chirimoya .....	5
2.4.	Características de la germinación y latencia de la semilla.....	5
2.5.	Mecanismo de escarificación de la semilla de chirimoya.....	7
2.6.	Almacenamiento de la semilla de chirimoya .....	7
III	MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
3.1.	Ubicación del experimento .....	9
3.2.	Descripción de la investigación .....	9
3.3.	Variables evaluadas .....	11
a.	Porcentaje de germinación.....	11
b.	Porcentaje de humedad de la semilla .....	12
c.	Peso fresco y longitud de las plántulas .....	13
3.4.	Diseño experimental .....	14
3.5.	Análisis estadístico .....	14
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
4.1.	Ubicación del embrión en la semilla de <i>Annona cherimola</i> Mill.....	15

4.2. Primer ensayo: Efecto del corte, remojo de la semilla en agua (0 y 5 días) y dosis (0, 250 y 500 ppm) de giberelina (AG3) en la germinación de semillas de chirimoya a 25°C de temperatura. ....	16
a. Significancia estadística de los tratamientos en los ANOVA's para la germinación de semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días. ....	17
b. Comparación de promedios de germinación de la semilla de chirimoya a los 14, 22 y 30 días .....	19
c. Comparación de promedios de germinación, a los 30 días.....	20
d. Evaluación del peso (gr) y longitud (cm) de las plántulas a los 30 días.....	23
4.3. Segundo ensayo: Efecto del corte y tiempo de almacenaje (2, 70 y 120 días) sobre el contenido de humedad y la germinación de semillas de chirimoya, a temperatura de 30°C. ....	25
a. Porcentaje de humedad de las semillas frescas y almacenadas por 2, 70 y 120 días a condiciones ambientales.....	25
b. Resumen de los ANOVA's, del porcentaje de germinación de las semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días, en los seis tratamientos evaluados .....	26
c. Comparación del promedio del porcentaje de germinación a los 14 días.....	28
d. Significancia estadística de los tratamientos (condición de la semilla: con corte y sin corte y tiempo de almacenaje (0, 70 y 120 días)) en los ANOVA's para la longitud y peso fresco de las plántulas de <i>A. cherimola</i> Mill. a los 30 días.....	29
e. Evaluación del peso (gr) y longitud (cm) de las plántulas a los 30 días.....	30
V. CONCLUSIONES .....	34
VI. RECOMENDACIONES .....	35
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
VIII. ANEXOS .....	41

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Producción de chirimoya en la sierra del Ecuador. ....	4
<b>Cuadro 2.</b> Descripción de los tratamientos del primer ensayo.....	10
<b>Cuadro 3.</b> Descripción de los tratamientos del segundo ensayo .....	10
<b>Cuadro 4.</b> Significancia estadística de los tratamientos en los ANOVA's para la germinación de semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días. ....	18
<b>Cuadro 5.</b> Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya, para los doce tratamientos a los 14, 22 y 30 días.....	19
<b>Cuadro 6.</b> Promedio de longitud (cm) y peso fresco (gr) de plántulas a los 30 días.....	24
<b>Cuadro 7.</b> Porcentaje de humedad de semillas a los 2, 70 y 120 días de almacenaje. ....	25
<b>Cuadro 8.</b> Significancia estadística de los porcentajes de germinación a los 14, 22 y 30 días, de los seis tratamientos evaluados: (con y sin corte) y tiempo de almacenaje (0, 70 y 120 días) .....	26
<b>Cuadro 9.</b> Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días, para los seis tratamientos evaluados.....	27
<b>Cuadro 10.</b> Significancia estadística de los seis tratamientos evaluados, para las variables longitud y peso fresco de plántulas, a los 30 días.....	30
<b>Cuadro 11.</b> Promedio de longitud (cm) y peso fresco (gr) de plántulas a los 30 días, en los tratamientos evaluados. ....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Procedimiento de la prueba de germinación.....	11
<b>Figura 2.</b> Secuencia de la germinación de la semilla hasta los 15 días. ....	12
<b>Figura 3.</b> Plántula anormal .....	12
<b>Figura 4.</b> Plántula normal .....	12
<b>Figura 5.</b> Proceso de secado de la semilla. ....	13
<b>Figura 6.</b> Medición de longitud en las plántulas normales.....	14
<b>Figura 7.</b> Desarrollo del embrión de <i>Annona cherimola</i> Mill.....	15
<b>Figura 8.</b> Etapas del desarrollo de la germinación de la semilla de <i>Annona cherimola</i> Mill. .....	16
<b>Figura 9.</b> Germinación de las semillas de <i>Annona cherimola</i> Mill.....	17
<b>Figura 10.</b> Semillas germinadas a los 14 días de iniciado el primer ensayo. ....	18
<b>Figura 11.</b> Comparación del porcentaje de germinación a los 30 días.....	21
<b>Figura 12.</b> Comparación del efecto del corte de la semilla en promedio de los niveles del factor tiempo de remojo y del factor dosis de AG3, en la germinación a los 30 días. ....	21
<b>Figura 13.</b> Comparación del efecto del AG3 en promedio de los tratamientos de corte y remojo de la semilla, en la germinación, a los 30 días. ....	22
<b>Figura 14.</b> Porcentajes de germinación a los 14, 22 y 30 días, en los tratamientos evaluados. .....	28
<b>Figura 15.</b> Comparación de los porcentajes de germinación a los 14 días en semillas con corte y sin corte.....	29
<b>Figura 16.</b> Comparación de promedios de longitud de plántula (cm) a los 30 días. ....	31
<b>Figura 17.</b> Comparación de longitud de plántulas provenientes de semillas con corte y sin corte a los 30 días. ....	32
<b>Figura 18.</b> Comparación de promedios de peso de las plántulas (gr), a los 30 días.....	32
<b>Figura 19.</b> Comparación de peso fresco de plántulas normales provenientes de semillas con corte y sin corte a los 30 días.....	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Análisis de varianza del porcentaje de germinación a los 14 días, primer ensayo. .....	41
<b>Anexo 2:</b> Análisis de varianza del porcentaje de germinación a los 30 días, primer ensayo. .....	41
<b>Anexo 3:</b> Análisis de varianza sobre longitud (cm) de las plántulas del primer ensayo.....	42
<b>Anexo 4:</b> Análisis de varianza sobre el peso (gr) de las plántulas del primer ensayo. ....	42
<b>Anexo 5:</b> Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 14 días, segundo ensayo. .....	42
<b>Anexo 6:</b> Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 22 días, segundo ensayo. .....	42
<b>Anexo 7:</b> Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 30 días, segundo ensayo. .....	43
<b>Anexo 8:</b> Análisis de varianza sobre longitud (cm) de las plántulas del segundo ensayo. .	43
<b>Anexo 9:</b> Análisis de varianza sobre el peso (gr) de las plántulas del segundo ensayo.....	43

## RESUMEN

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) es muy importante para la economía peruana y ecuatoriana; sin embargo, los estudios sobre la germinación y el aspecto estructural de las semillas de la familia Annonaceae son escasos. La presente investigación, que consta de dos ensayos, tiene como objetivos obtener información detallada sobre la anatomía y germinación de la semilla de chirimoya, analizar el efecto de tratamientos físicos, mecánicos y químicos para vencer la dormancia, determinar la temperatura óptima para la germinación y evaluar el potencial de almacenamiento de la semilla. En el primer ensayo se evaluó el efecto del corte en la zona micropilar de la semilla, el efecto del tiempo de remojo de la semilla en agua (0 y 5 días) y dosis (0, 250 y 500 ppm) de giberelina (AG3), con temperatura constante de 25°C. Se evaluaron doce tratamientos con 4 repeticiones. En el segundo ensayo se evaluó el efecto del corte en la zona micropilar y el tiempo de almacenaje de la semilla (0, 70 y 120 días), sobre la humedad de la semilla y la germinación, a temperatura de 30°C, con 4 repeticiones. En ambos ensayos, las semillas fueron colocadas en papel toalla humedecido y enrollado, y colocadas dentro de un germinador, con una temperatura de 25°C en el primer ensayo y 30°C en el segundo. Las evaluaciones de la germinación se realizaron a los 14, 22 y 30 días de la siembra en papeles toalla, con la finalidad de registrar el ritmo de crecimiento del embrión. En el primer ensayo se encontró que a los 30 días se obtuvo el máximo porcentaje de germinación (57%) en las semillas con corte en la testa, cero días de remojo y sin ninguna aplicación de AG3, y plántulas con longitud promedio de 23.96 cm y un peso de 13.28 gr. En el segundo ensayo, el porcentaje de humedad en semillas frescas fue de 42.19%, a los 70 días, 22.23% y a los 120 días de almacenamiento, 11.16%. El máximo porcentaje de germinación a los 30 días también se obtuvo en semillas con corte y cero días de almacenamiento (53%), que produjeron plántulas con un promedio de longitud de 22.81 cm y un peso de 12.01 gr. Se sugiere como tratamiento pre-germinativo, efectuar el corte en la zona micropilar de la semilla para acelerar la germinación. El periodo máximo de almacenaje de la semilla de chirimoya, a temperatura ambiental es de 70 días.

**Palabra claves:** hormona, escarificación, chirimoya, germinación.

## ABSTRACT

The cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) is a very important crop for the Peruvian and Ecuadorian economy; however, studies on the germination and structural characteristics of the seeds of the Annonaceae family are scarce. The present research, which consists of two trials, aims to obtain detailed information on the anatomy and germination of cherimoya seed, to analyze the effect of physical, mechanical and chemical treatments to overcome dormancy, to determine the optimum temperature for germination and to evaluate the seed storage potential. In the first trial, the effect on germination at 25 °C, of cutting of the micropillary zone of the seed, the time of soaking the seed in water (0 and 5 days) and doses (0, 250 and 500 ppm) of gibberellin (AG3) were evaluated. Twelve treatments with 4 replications were evaluated. In the second trial, the effect of cutting of the micropillary zone and the storage time of the seed at room temperature (0, 70 and 120 days), on seed moisture and germination, at a temperature of 30 °C with 4 repetitions, were evaluated. . In both tests, the seeds were placed on moistened and rolled paper towel and placed inside a germinator, with a temperature of 25 °C in the first test and 30 °C in the second. The germination evaluations were carried out on the 14th, 22nd and 30th day of planting in towel papers in order to record the growth rate of the embryo. In the first trial it was found that at 30 days the maximum percentage of germination (57%) was obtained on seeds with cut in the micropillary zone, zero days of soaking and without any application of AG3, and seedlings with an average length of 23.96 cm. and a weight of 13.28 gr. In the second trial, the percentage of moisture in fresh seeds was 42.19%; at 70 days, 22.23% and at 120 days of storage, 11.16%. The maximum percentage of germination at 30 days was also obtained in seeds having the micropillary zone cut, and zero days of storage (53%), which produced seedlings with an average length of 22.81 cm and a weight of 12.01 gr. It is suggested as a pre-germinative treatment, to cut the micropillary zone of the seed to accelerate the germination. The maximum period of storage of the cherimoya seed at room temperature is 70 days.

**Keywords:** hormone, scarification, custard apple, germination.

## I INTRODUCCIÓN

La chirimoya, *Annona cherimola* Mill., es un frutal perenne de la familia Annonaceae; el género *Annona* cuenta con aproximadamente 100 especies de árboles y arbustos cuya mayoría tienen su origen de la cordillera de los Andes, concretamente en lo que en la actualidad serían países como Perú y Ecuador. Dentro de las especies más comerciales están la chirimoya, (*A. cherimola* Mill.), el anón (*A. reticulata* L.), el riñón (*A. squamosa* L.) y la guanábana (*A. muricata* L.) (Gonzales, 2013).

Perú cuenta con los principales mercados de exportación, dentro de los cuales se encuentran los países de la Unión Europea, Estados Unidos y Japón, realizando exportaciones anuales de chirimoya a Estados Unidos, de 3000 t/año. Desde los años 90 hasta la actualidad la población peruana tiene un consumo mayor a los 20 mil kilos por año. El mercado nacional tiene más de 3600 hectáreas de chirimoya, de las cuales más del 98 por ciento se cosechan en los meses de marzo a junio (Sánchez, 2011).

En el Ecuador siempre ha apreciado la fruta por su exquisito sabor. Según el III Censo Nacional Agropecuario realizado en el 2000, el área de producción es de 532 hectáreas, teniendo una producción de 627 ton esto equivale a 1.34 ton por hectárea; las provincias que destacan son Pichincha con 291 hectáreas, que aportan un 44 por ciento de la producción, seguido de Loja con 140 hectáreas (43 por ciento de la producción), Azuay con 71 hectáreas (7 por ciento) e Imbabura con 30 hectáreas (6 por ciento de la producción de chirimoya) (Guerrero, 2012; MAGAP, 2010).

La multiplicación por medio sexual es el método más antiguo que hay en el cultivo de anón, siendo el más utilizado por los agricultores que se dedican a la explotación de este cultivo (Guerrero, 2005). La siembra por semilla debe hacerse en forma horizontal, a 2 cm de profundidad y a una distancia de 1.5 cm.

La germinación se inicia a partir de los 30 días (Cruz, 2002). El inconveniente de este método es la baja germinación y la alta variabilidad genética (Morton, 1987; Cruz, 2002). Las semillas pierden rápidamente su viabilidad (aproximadamente en 6 meses); razón por la cual deben ser sembradas tan pronto como sea posible (Nakasone y Paull, 1998). Investigaciones realizadas por George y Nissen (1987) señalan que la mayoría de las semillas tropicales de las Annonaceae tienen un período relativamente largo de viabilidad, requiriendo de 1 a 3 meses para germinar, pero poseen una pobre e impredecible germinación, la cual es altamente variable (en un rango del 30 al 80 por ciento) en semillas recién cosechadas.

El alcance del estudio fue de tipo descriptivo y se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general: Obtener información detallada sobre la anatomía y germinación de la semilla de chirimoya (*A. chirimola* Mill.) Objetivos específicos:

1. Describir la anatomía de la semilla de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.)
2. Determinar el efecto del corte de la semilla en la región micropilar, el efecto del remojo en agua, la concentración AG3 y la temperatura óptima.
3. Determinar el efecto del almacenamiento en la viabilidad de las semillas de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.).

## II REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen y distribución

#### a. Origen

En la familia Annonaceae existen alrededor de 2500 especies agrupadas dentro de 130 a 140 géneros; Walter, 1971 y Mabberley, 1990. El nombre de chirimoya viene del idioma quechua chiri (frío, fría) y muya (semilla), siendo un cultivo muy cotizado por los indígenas antes del descubrimiento del continente americano y nativo de los andes ecuatorianos, y peruanos. Tiene un buen desarrollo en las zonas subtropicales y occidentales de la cordillera de los Andes, donde se encuentra de 1500 a 2000 msnm (Gonzales, 2013).

#### b. Zonas de producción

En el Perú, se encuentran 19 regiones donde se produce la chirimoya, teniendo el primer puesto Lima con una producción de 11 797 ton, Cajamarca con 3 730 ton y Piura con 1 775 ton; estas 3 regiones aportaron en el 2013, el 73.36 por ciento de la producción de chirimoya en el Perú (MINAGRI, 2014).

En el Ecuador, de acuerdo a estadísticas del III Censo Nacional Agropecuario realizado en el 2000, se establece un área de producción estimada en 532 hectáreas, con una producción de 627 toneladas métricas, lo que equivaldría a un rendimiento de 1.34 toneladas por hectárea (Cuadro 1)

**Cuadro 1.** Producción de chirimoya en la sierra del Ecuador.

Estadísticas de producción en el 2000			
Provincias	Área Total (ha)	Área de cosecha (ha)	Producción ton
Pichincha	291	274	277
Loja	140	97	270
Azuay	71	68	41
Imbabura	30	28	39

**Fuente:** MAGAP, (2010).

## **2.2. Características taxonómicas y botánicas de la planta**

### **a. Taxonomía**

Según el sitio web Jardín Botánico de Misuri (MOBOT, 2018), la clasificación taxonómica de la chirimoya es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Subfamilia: Annonoideae

Género: *Annona*

Especie: *Annona cherimola* Mill.

### **b. Descripción botánica**

Es una planta semicaducifolia que tiene aproximadamente una altura de 5-8 m, el sistema radicular es superficial y bien ramificado (Trigoso, 2015). Presenta de 3 a 6 raíces pivotantes, su tallo es redondo con corteza lisa, con los entrenudos largos. Puede formar una copa redonda por sus ramas, que son de rápido crecimiento y alternadas, lo cual facilita la poda. Sus yemas dan origen a brotes mixtos o puede salir un brote vegetativo o solo una inflorescencia (Castro, 2007). Las flores de las Anonáceas se caracterizan por ser dicógamas y protógamas. Esto quiere decir que tienen flores perfectas pero sus órganos sexuales no maduran a la misma vez, y la protógama es porque cuando una flor está abierta los estigmas están receptivo en las primeras horas de la mañana, mientras que el polen es soltado por los estambres en la tarde (Castro, 2007). Tiene hojas elíptico-lanceoladas, alternadas, son lisas en los bordes, con un color verde oscuro; en el haz son glaucas, y el envés es pubescente. El fruto se consume fresco porque la pulpa es dulce y es una fuente de proteína, fósforo, y azúcares; también se puede consumir como jugos, vinos, helados y bebidas (Martínez, 2012).

### **2.3. Biología floral de la chirimoya**

Las flores de chirimoya son hermafroditas, muy aromáticas y colgantes, con su pedúnculo más corto que el de otras flores. El cáliz es dialisépalo, formado por tres sépalos pequeños de 5 mm. La corola está formada por 6 pétalos unidos en la base; el androceo consta de numerosos estambres libres que van de 150 a 200 en cada flor; cada estambre tiene dos tecas largas, dando lugar a que los carpelos formen un cono en el ápice del receptáculo (Escobar, 1996). Las flores aparecen a los tres a cuatro años, la antesis comienza con la separación de los pétalos adultos, al abrirse por el ápice; esto ocurre en las primeras horas donde el estigma está listo para recibir el polen, pero los estambres no han producido el polen (Vilatuña, 1998). Para obtener una buena polinización se tiene que recurrir a la polinización artificial o dirigida; esto se realiza con un pincel o un atomizador, pues las flores de la chirimoya son protogineas (Apolonio et al., 2015). Se recoleta el polen cuando esta fértil y se incorpora cuando la flor recién se abre; con esta técnica se puede obtener mayor cuajado del fruto (Escobar, 1996). Al parecer son pocos los insectos que pueden polinizar las flores de chirimoya; en mayor número son los escarabajos, cuya presencia aumenta, a mayor temperatura del suelo (20-30°C) y disminuye con precipitaciones por encima de 5 mm por día. Las flores polinizadas manualmente produjeron cuatro veces más frutos que aquellas polinizadas por los escarabajos (Caballero, 2007).

### **2.4. Características de la germinación y latencia de la semilla**

La germinación es la emergencia y desarrollo del embrión, teniendo todas sus estructuras que indican que la semilla estaba hábil para producir una nueva planta en condiciones adecuadas. En la germinación ocurre un proceso fisiológico muy complejo. Existiendo las condiciones adecuadas para la semilla, ocurre el desarrollo del embrión, que rápidamente rompe la testa, pudiéndose observar la presencia de la radícula; cuando se identifica la radícula podemos decir que la semilla ha germinado (Filgueiras et al., 2010).

En la germinación se pueden determinar tres fases: la fase I, es cuando sucede la penetración del agua hacia la semilla; la fase II es la de estabilización y la fase III es cuando termina el proceso de germinación. En estas fases el metabolismo celular se incrementa y el embrión reanuda su crecimiento activo, forzando el rompimiento de la cubierta seminal para permitir que emerja la radícula (Martínez et al., 2012).

Uno de los factores muy importantes para la germinación de la semilla es la temperatura, porque puede afectar la absorción del agua y las reacciones bioquímicas involucradas en el metabolismo para que ocurra la germinación. La semilla necesita una temperatura mínima, óptima y máxima; las temperaturas mínimas reducen la velocidad de germinación y alteran la uniformidad de emergencia (Gonzales, 2013).

Se conoce que hay diferentes tipos de latencia; estas pueden ser exógenas, endógenas y dobles. La exógena es provocada por la cubierta externa de la semilla (testa o pericarpio), que recubre al embrión y no permite la germinación. La latencia endógena es cuando existen problemas con el embrión que no está desarrollado totalmente, y la doble, cuando se combinan las dos clases de latencia (Lobo et al., 2007). Para conocer si una semilla es viable o no, se efectúa una prueba de germinación o una con tetrazolio. Ambas pruebas nos dan a conocer que tan viables se encuentran las semillas. La germinación con el papel toalla permite determinar el porcentaje de germinación de la semilla (Gimenez et al., 2014).

En diversos géneros y especies de la familia Annonaceae se ha reportado la presencia de latencia morfológica y morfofisiológica (Baskin y Baskin, 2001). La primera ocurre en semillas con embriones rudimentarios y laminares, en las cuales la mayor parte de la simiente está ocupada por el endosperma y el embrión corresponde aproximadamente al uno por ciento del volumen de la unidad de propagación sexual (Nikolaeva, 1969); estos presentan diferenciación, sin estar latentes y simplemente necesitan tiempo para crecer y germinar (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). En la segunda, adicionalmente al embrión rudimentario, un mecanismo fisiológico inhibe la germinación de la semilla (Baskin y Baskin, 2001; Baskin y Baskin, 2004), por lo cual hay que emplear protocolos de estratificación, los que en algunos casos, pueden remplazarse con la aplicación de ácido giberélico (AG3).

Las especies de la familia Annonaceae, tienen un poco de latencia por ser un cultivo perenne y porque su medio de diseminación, generalmente es por los animales. Por ello, la semilla ha diseñado diferentes mecanismos de latencia morfológica y fisiológica. La semilla es rudimentaria y casi toda la semilla está ocupada por el endospermo, y el embrión representa el uno por ciento del volumen de la semilla (Lobo et al., 2007). Al respecto, Lobo et al. (2007) señalaron que durante las 24 horas de incubación en agua de las simientes de chirimoya y guanábana, estas embebieron, lo que se tradujo en un aumento de peso de

alrededor del 20 por ciento. Esto indicó la ausencia de impermeabilidad en la testa de las semillas de las dos especies y consecuentemente de latencia exógena o física. A sí mismo, Baskin y Baskin (2001, 2004) y Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006) también señalaron que la impermeabilidad es causada por capas de células de empalizada en la semilla, que controlan el movimiento del agua.

## **2.5. Mecanismo de escarificación de la semilla de chirimoya**

Cuando se habla sobre almacenamiento de semillas hay que considerar que existen tres tipos: semillas con característica ortodoxa (toleran la desecación), recalcitrante (no toleran la desecación) o intermedia (que toleran sólo una pequeña desecación). En la semilla se encuentra gran parte del material energético para el embrión en sus primeras etapas de vida. Se tiene que tener cuidado al momento de la extracción y secado de la semilla, que debe mantenerse en un ambiente adecuado con la finalidad de poderlas preservar por un buen tiempo sin que su poder germinativo se pierda (Doria, 2010).

La mayoría de especies, en especial las perennes, tienen problemas con la germinación de su semilla; por eso es que se tienen que tomar medidas para poder ayudarlas a romper la latencia. Una de ellas es la escarificación, que puede ser de tres tipos: la mecánica, la física y la química (Orozco et al., 2010).

- **Mecánica:** Usar alguna herramienta para penetrar la testa o la corteza que está recubriendo el embrión para facilitar su desarrollo (Rojas et al., 2005).

- **Física:** Suministrar la cantidad necesaria de agua para que esta penetre, llegue al embrión y este pueda romper la latencia (Rojas et al., 2005).

- **Química:** Utilizar alguna sustancia química hormonal como las giberelinas (AG3), para poder romper la latencia (Orozco et al., 2010).

## **2.6. Almacenamiento de la semilla de chirimoya**

Cuando la semilla se quiere almacenar, se tiene que tener en cuenta que esta sea uniforme, sana y libre de daños físicos. Se tiene que almacenar con un tratamiento de fungicidas e insecticidas y guardarla en un recipiente hermético cerrado, a una temperatura de 10°C, o se puede almacenar a temperatura ambiente, colocando los envases en un lugar fresco, ventilado y que no sufra variaciones bruscas de temperatura (Irigoyen, 2004).

La latencia de las semillas, en conjunción con el hecho de que estas sean ortodoxas, tiene gran importancia en la ecología de la regeneración poblacional, atributos que se presentan en las semillas de chirimoya y guanábana. Estas fueron categorizadas como ortodoxas por parte de Ferreira y Pinto (2005) y Hong et al. (1996).

### **III MATERIALES Y MÉTODOS**

La presente investigación en su primera fase es de tipo descriptiva pues se efectuaron el corte de semillas embebidas en agua para describir la anatomía de la semilla y las características del embrión. En su segunda fase experimental se someterá a la semilla a diferentes tratamientos, en dos experimentos consecutivos.

#### **3.1. Ubicación del experimento**

El ensayo se realizó entre los meses de enero a diciembre del 2017. Los análisis de germinación del primer experimento se realizaron en las instalaciones del laboratorio de semilla del departamento de fitotecnia de la UNALM. El análisis de germinación del segundo experimento se realizó en el laboratorio oficial de semilla del INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). Ambos laboratorios están localizados en la región y provincia de Lima y el distrito de La Molina, en el Perú, en las coordenadas 12° 04' 36" Latitud Sur y 76° 56' 43" Longitud Oeste, a una altitud de 246 msnm.

#### **3.2. Descripción de la investigación**

El experimento se inició con la recolección de los frutos de chirimoya de la variedad Cumbe y posteriormente se obtuvieron de estos frutos las semillas requeridas para los ensayos. A fin de eliminar semillas vanas, estas se colocaron en un medio líquido, las semillas que flotaron fueron eliminadas y no formaron parte del ensayo. La anatomía de la semilla se analizó utilizando parte de las semillas hábiles que fueron sumergidas en agua por 24 horas, con la finalidad de que la semilla esté turgente y se pueda visualizar el embrión. Luego las semillas se cortaron longitudinalmente con la ayuda de una pinza y un bisturí, para poder observar las estructuras de la semilla. Los cortes fueron analizados en un microscopio estereoscópico.

En el primer ensayo se evaluaron 12 tratamientos y en el segundo ensayo se evaluaron seis tratamientos con cuatro repeticiones para cada ensayo. Los tratamientos se muestran en los cuadros 2 y 3.

**Cuadro 2.** Descripción de los tratamientos del primer ensayo

Tratamiento	Condición de la semilla	Tiempo de remojo de las semillas en agua (días)	Dosis de giberelina (AG3) (ppm)
T1	S/C*	Cero	0
T2	S/C	Cero	250
T3	S/C	Cero	500
T4	S/C	Cinco	0
T5	S/C	Cinco	250
T6	S/C	Cinco	500
T7	C/C	Cero	0
T8	C/C	Cero	250
T9	C/C	Cero	500
T10	C/C	Cinco	0
T11	C/C	Cinco	250
T12	C/C	Cinco	500

\*S/C = Sin corte; C/C = Con corte

**Cuadro 3.** Descripción de los tratamientos del segundo ensayo

Tratamientos	Condición de la semilla	Tiempo de almacenaje de la semilla (días)
T1	S/C*	0
T2	S/C	70
T3	S/C	120
T4	C/C	0
T5	C/C	70
T6	C/C	120

\*S/C= Sin corte; C/C= Con corte

En el primer ensayo de germinación, se procedió a remover el extremo micropilar de la mitad del total de las semillas, utilizando un alicate pequeño, dejando intactas la otra mitad de las semillas (Figura 1). Después, se realizó el remojo en agua, por 0 o 5 días, transcurridos los cuales se colocaron en una solución de giberelina (AG3), en concentraciones de 0, 250 y 500 ppm, según el tratamiento, por dos minutos. En el análisis de germinación se emplearon 4 repeticiones de 25 semillas por cada tratamiento.

La prueba de germinación se realizó en un germinador a 25°C y aproximadamente 98 por ciento de humedad relativa. Se utilizó el método de toallas enrolladas y humedecidas con una solución de fungicida Homai® (Thiophanate methyl + thiram) al 5 por mil (Figura 1). Se tuvo la necesidad de desinfectar el papel toalla, porque en un ensayo previo se encontraron hongos del genero *Fusarium* y *Rhizopus*, los cuales son patógenos contaminantes. Luego, las toallas enrolladas fueron colocadas en envase de plástico, dentro de un germinador. La primera evaluación se realizó a los 14 días de la siembra en papel toalla; luego se monitoreó a los 22 y 30 días.

En el segundo ensayo se evaluaron los tratamientos: condición de la semilla: (con corte y sin corte) y días de almacenaje de la semilla a partir del momento de su extracción de los frutos (0, 70 y 120 días), a fin de evaluar el potencial de almacenamiento. En la prueba de germinación se siguió el mismo procedimiento del primer ensayo, excepto que se empleó una temperatura constante de 30 °C. Los tratamientos fueron seis, con cuatro repeticiones (Cuadro 3).



**Figura 1.** Procedimiento de la prueba de germinación. A: solución del fungicida, B: alicata pequeño, C: corte transversal de la semilla en la zona micropilar, D: semilla con corte y sin corte.

### 3.3. Variables evaluadas

#### a. Porcentaje de germinación

En ambos ensayos, la germinación se evaluó a los 14, 22 y 30 días, considerándose como semilla germinada, a la que mostraba por lo menos 1 cm de longitud de radícula. A los 30 días se realizó la última evaluación en ambos ensayos (Figuras. 2, 3 y 4).



**Figura 2.** Secuencia de la germinación de la semilla hasta los 15 días.



**Figura 3.** Plántula anormal



**Figura 4.** Plántula normal

#### **b. Porcentaje de humedad de la semilla**

De acuerdo con las reglas internacionales para el análisis de semillas de la ISTA (2016) (Internacional Seed Testing Association), el porcentaje de humedad se expresa como el peso del agua contenida, como un porcentaje del peso total de la semilla antes del secado (porcentaje del peso húmedo); para lo cual se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad de la semilla \%} = \frac{\text{peso del agua}}{\text{peso de la muestra antes del secado}} \times 100$$

Para el secado, se utilizó una estufa a una temperatura de 105°C por 12 h, empleándose tres repeticiones de 10 gramos de semilla para cada periodo de almacenaje. Luego, las semillas fueron colocadas en un desecador por 3 horas (Figura 5).



**Figura 5.** Proceso de secado de la semilla: A: temperatura usada en la estufa, B: pesado de 10 gramos de semilla antes de entrar a la estufa, C: Temperado de la semilla en un desecador de vidrio.

### c. Peso fresco y longitud de las plántulas

Se pesaron las plántulas a los 30 días, utilizando una balanza digital. Se midió la longitud en centímetros con una regla, también a los 30 días. La medida se tomó desde el ápice foliar hasta la punta de la radícula, como se muestra en la (Figura. 6).



**Figura 6.** Medición de longitud en las plántulas normales

### **3.4. Diseño experimental**

En ambos ensayos se utilizó el Diseño Completo al Azar, con cuatro repeticiones.

### **3.5. Análisis estadístico**

En cada uno de los dos ensayos se realizó un análisis de varianza (ANOVA's), bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA). Para la comparación de medias de tratamientos, se empleó la prueba de Tukey, a nivel de  $p=0.05$ . Se empleó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 8.

El modelo estadístico utilizado para ambos ensayos fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

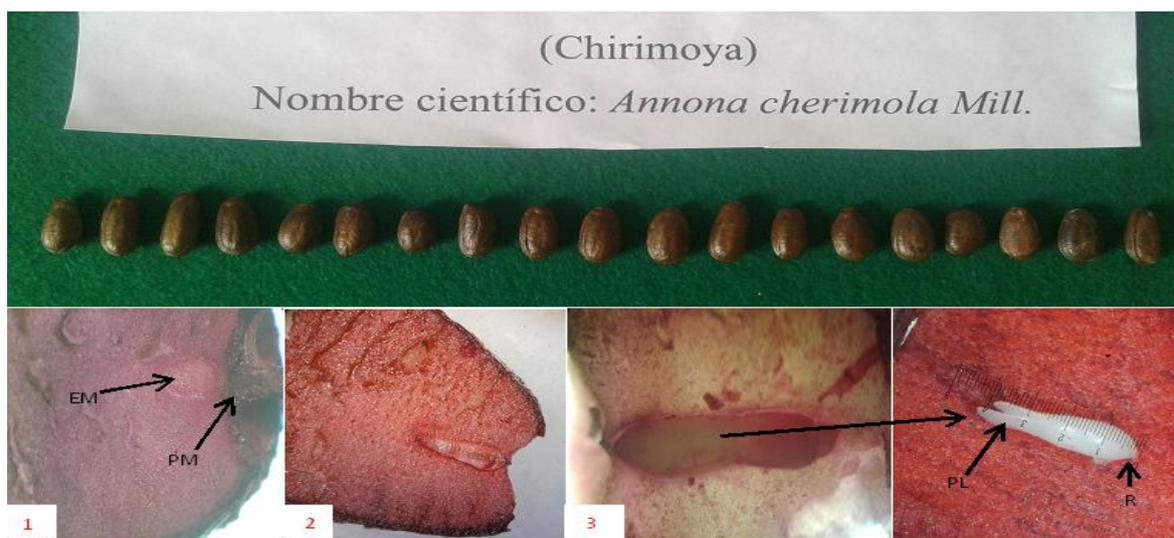
Dónde:

- $Y_{ij}$  = Es la observación de la i-ésimo tratamiento de la j-esima repetición.
- $\mu$  = Constante, media de la población a la cual pertenecen las observaciones.
- $\alpha_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento.
- $\epsilon_{ij}$  = Error aleatorio

## IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Ubicación del embrión en la semilla de *Annona cherimola* Mill

Se empleó una solución de tetrazol para localizar el embrión pequeño e inmaduro de 3 a 4 mm de *A. cherimola* Mill. Los resultados se detallan en la Figura.7. El embrión se encontró en la parte central por donde está ubicado el micrópilo, recubierto por el plug micropilar. Los resultados concuerdan con los de De Smet et al (1999) y Martínez et al (2012) en semilla de *Annona squamosa* L., donde reportaron las mismas características encontradas en la semilla de chirimoya.



**Figura 7.** Desarrollo del embrión de *Annona cherimola* Mill. en las primeras etapa. PM plug micropilar, EM embrión, PL plúmula, R radícula. (1) Embrión inmaduro (3 a 4 mm) a la extracción de la semilla, (2) embrión de la semilla con humedad del 10%, (3) embrión de la semilla con humedad del 40%.

En semillas que tienen alrededor de 40% de humedad, el embrión se encuentra turgente, a diferencia de una semilla que tiene el 10% de humedad, donde el embrión es más pequeño. Las especies de la familia Annonaceae tienen semillas sésiles, albuminosas, elipsoides y su tamaño varía entre 1.5 a 2 cm de largo. Setten y Koek-Noorman (1992), indican que la

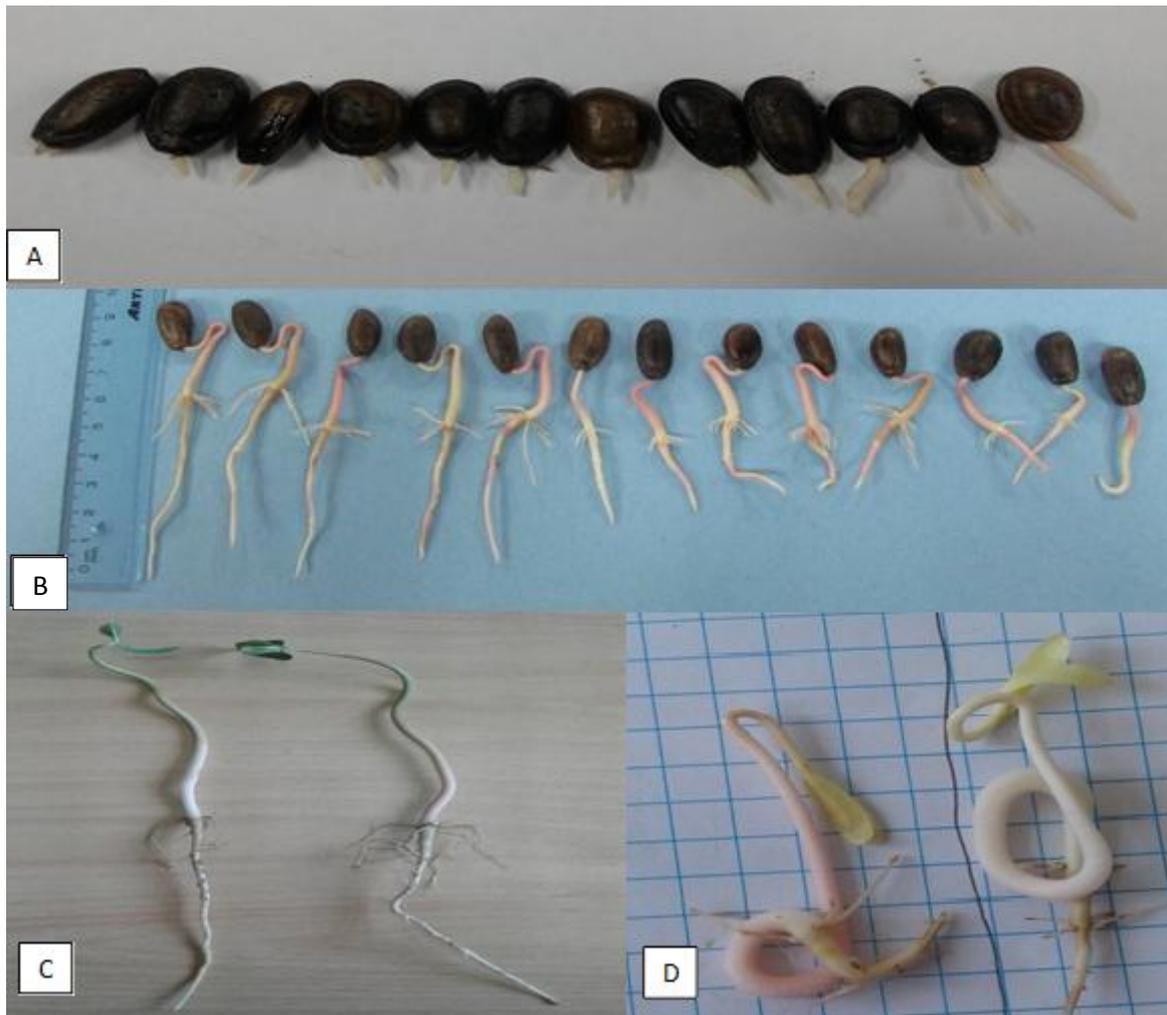
semilla de las Annonaceae, por dispersarse con facilidad, presenta un embrión pequeño e inmaduro y que al tener las condiciones adecuadas pueden completar su crecimiento. En una investigación realizada por Hayat (1963), en semillas de *Annona squamosa* L., identifica al embrión en estado inmaduro, pero con la diferencia que se podía identificar sus dos cotiledones y menciona que la semilla demora de uno a tres meses en germinar.

#### 4.2. Primer ensayo: Efecto del corte, remojo de la semilla en agua (0 y 5 días) y dosis (0, 250 y 500 ppm) de giberelina (AG3) en la germinación de semillas de chirimoya a 25°C de temperatura.

En el proceso de la germinación se identificaron 2 etapas: En los primeros 8 días se produjo el proceso de ruptura de la testa, lo cual se debió al incremento del tamaño del embrión, y esto comenzó por el plug micropilar. La segunda etapa comenzó entre los 9 y 12 días, donde se pudo identificar la radícula; a los 20 días se pudo identificar las primeras raíces laterales, necesiándose un promedio de 30 días para obtener una plántula normal que tuvo entre 20 y 24 cm (Figuras 8 y 9).



**Figura 8.** Etapas del desarrollo de la germinación de la semilla de *Annona cherimola* Mill. (A) Embrión, donde se puede ver la radícula y plúmula entre 9 y 12 días con un porcentaje de humedad de la semilla del 40%, (B) Alargamiento de la raíz primaria, (C) Elongación de la radícula con la formación de raíces laterales.



**Figura 9.** Germinación de las semillas de *Annona cherimola* Mill. a los 14, 22 y 30 días (A) 14 días, proceso de elongación de la radícula (B) a los 22 días crecimiento de la radícula y alargamiento del hipocotilo, (C) 30 días plántula normal de *A. cherimola* Mill., (D) Plántula anormal.

**a. Significancia estadística de los tratamientos en los ANOVA's para la germinación de semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días.**

En el Cuadro 4, se puede apreciar que el análisis de varianza reporta diferencias altamente significativas entre los tratamientos, en todas las evaluaciones de la germinación, realizadas a los 14, 22 y 30 días. A los 14 días tenemos un promedio de germinación de 26.5% con un coeficiente de variación del 14%; el promedio a los 22 días es de 37.91%, con un coeficiente de variación de 9.5% y a los 30 días, el promedio es de 39.75% con un coeficiente de variación de 10%.

Según GOMES (2009), en experimentos de campo, si el coeficiente de variación está por debajo del 10%, se considera bajo, es decir, el experimento tiene una alta precisión. Del 10 al 20%, el CV se considera medio, lo que implica una buena precisión. De 20 a 30% se considera alta, lo que significa baja precisión. Finalmente, si está por encima del 30% se considera muy alto, lo que indica una precisión muy baja. Nuestros coeficientes de variación están en el rango del 9.5% y 14%, por lo tanto, pueden considerarse como medios, y por lo tanto de buena precisión.

En la Figura 10, se puede apreciar el crecimiento radicular de la semilla, a los 14 días en que se realizó la primera evaluación.

**Cuadro 4.** Significancia estadística de los tratamientos en los ANOVA's para la germinación de semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días.

N° de días para la evaluación de la germinación			
Fuente de variación	14 Días	22 Días	30 Días
Tratamientos.	0.0001**	0.0001**	0.0001**
Promedio	26.5	37.91	39.75
C.V	14%	9.5%	10%

\*\*Altamente significativo. C.V = Coeficiente de variación.



**Figura 10.** Semillas germinadas a los 14 días de iniciado el primer ensayo.

**b. Comparación de promedios de germinación de la semilla de chirimoya a los 14, 22 y 30 días**

Los promedios de germinación a los 14, 22 y 30 días, se muestran en el Cuadro 5. Se puede notar que las semillas de chirimoya expuestas a temperatura de 25 °C y considerando como germinadas a las que presentan una longitud de radícula de 1 cm, a los 14 días ya se logra en promedio de todos los tratamientos, 27 % de germinación. También se observa que, con un aumento de 8 días, dicho promedio se eleva a 38%. Un aumento de ocho días adicionales, no causa un aumento significativo en el porcentaje de germinación, pues éste, en promedio, se eleva solo a 40%. Esto nos indicaría que, para propósitos prácticos, la germinación de semillas de chirimoya, puede evaluarse a los 22 días, empleando una temperatura de 25 °C. Esto último se corrobora con los datos de la diferencia entre el porcentaje de germinación a los 22 y 30 días, que son pequeñas.

**Cuadro 5.** Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya, para los doce tratamientos a los 14, 22 y 30 días.

Trat.	Condición de la semilla*	Tiempo de remojo (días)	Concentración de AG3 (ppm)	Porcentaje de germinación a los días indicados						Diferencias entre el % de germinación a los 30 y 22 días
				14**		22		30		
1	SC	0	0	22	DE	30	E	32	E	+2
2	SC	0	250	23	CDE	35	CDE	38	BCDE	+3
3	SC	0	500	22	DE	34	CDE	36	CDE	+2
4	SC	5	0	21	E	32	E	36	CDE	+4
5	SC	5	250	22	DE	36	BCDE	37	CDE	+1
6	SC	5	500	22	DE	32	E	34	DE	+2
7	CC	0	0	40	A	52	A	57	A	+5
8	CC	0	250	34	AB	44	AB	47	B	+3
9	CC	0	500	32	ABC	44	AB	44	BC	0
10	CC	5	0	31	ABCD	42	BC	42	BCD	0
11	CC	5	250	29	BCDE	41	BCD	41	BCDE	0
12	CC	5	500	20	E	33	DE	33	DE	0
<b>PROMEDIOS</b>				<b>27</b>		<b>38</b>		<b>40</b>		

\* SC = Sin corte, CC = Con corte

\*\* Dentro de cada columna correspondiente a días, los datos de germinación que contienen una letra en común no son significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ).

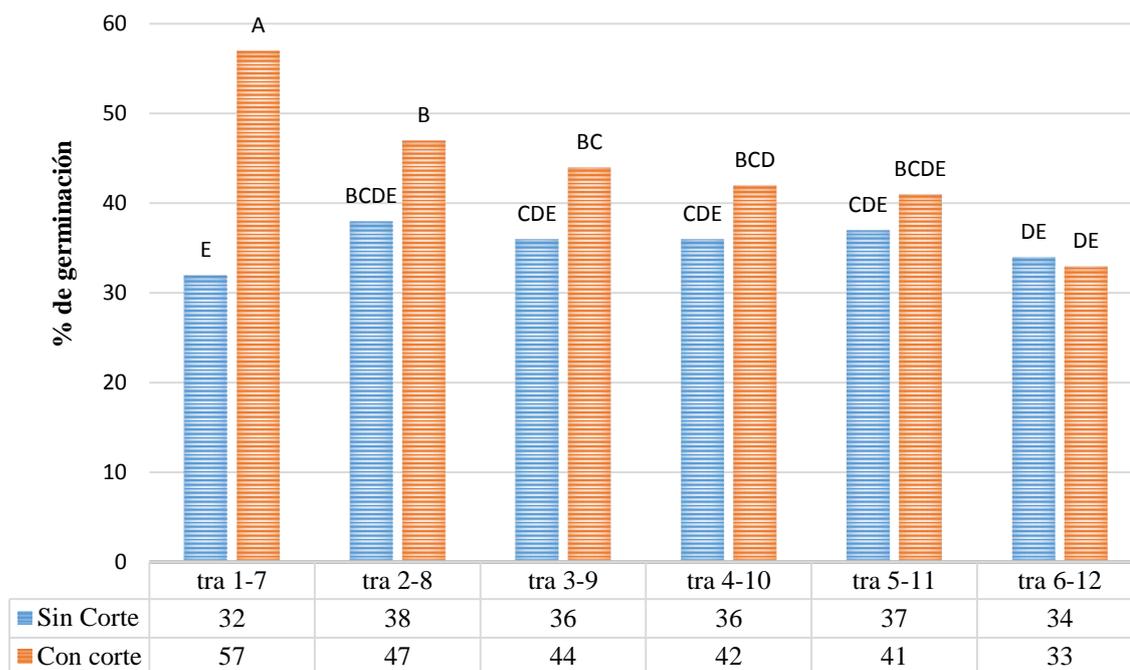
### c. Comparación de promedios de germinación, a los 30 días

Para evaluar el efecto de los tratamientos, se emplearán los datos de los resultados de las comparaciones de promedios de germinación a los 30 días, empleando la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Dichos datos también figuran en el Cuadro 5.

La comparación entre los tratamientos 1 con 7 evalúa el efecto del corte sin remojo en agua y sin AG3. El corte mejoró significativamente la germinación (32 vs 57% = 25 puntos de porcentaje). La comparación entre los tratamientos 2 con 8 evalúa el efecto del corte más 250 ppm de AG3, en semilla sin remojar. También hubo ligera mejora, con el corte, pero menor que en el anterior (38 vs 47% = 9 puntos de porcentaje), lo cual indica que la adición de 250 ppm de AG3 está, de algún modo, reduciendo el efecto positivo del corte, causando una reducción de  $25 - 9 = 16$  puntos de porcentaje en la germinación. Comparando los tratamientos 3 con 9 se evalúa el efecto del corte más 500 ppm de AG3, en semilla sin remojar. La mejora significativa de la germinación con el corte más la adición de 500 ppm de AG3 es similar a la obtenida sólo con 250 ppm de AG3 (36%-vs 44% = 8 puntos de porcentaje). Esto indica que las concentraciones de 250 y 500 ppm de AG3 tienen el mismo efecto negativo en reducir el efecto positivo sólo del corte, en semillas sin remojo.

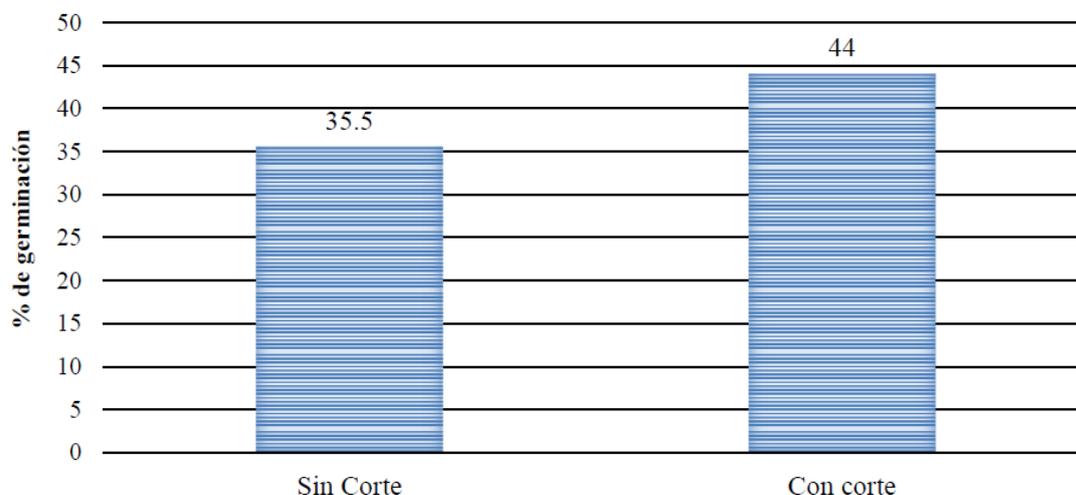
La comparación entre los tratamientos 4 con 10 evalúa el efecto del corte en semillas remojadas en agua por cinco días, sin AG3. El corte también mejoró la germinación de las semillas con remojo por cinco días y sin AG3 (36 vs 42% = 6 puntos de porcentaje). Esta mejora es significativamente menor que la obtenida en semillas sin remojo y sin AG3, e indica que el remojo de la semilla por 5 días no mejora la germinación.

Comparando los tratamientos 5 con 11 se evaluó el efecto del corte en semillas remojadas por cinco días y con 250 ppm de AG3. La adición de 250 ppm de AG3 en semilla cortada y remojada, mejoró ligeramente la germinación (37 vs 41% = 4 puntos de porcentaje). La comparación de los tratamientos 6 con 12 evalúa el efecto del corte en semillas remojadas en agua por cinco días y con 500 ppm de AG3. Prácticamente no hubo efecto del corte en la germinación de semillas remojadas en agua y tratadas con 500 ppm de AG3 (34 vs 33%). Los resultados de las seis comparaciones antes mencionadas, se pueden ver en forma gráfica en la Figura 11.



**Figura 11.** Comparación del porcentaje de germinación a los 30 días

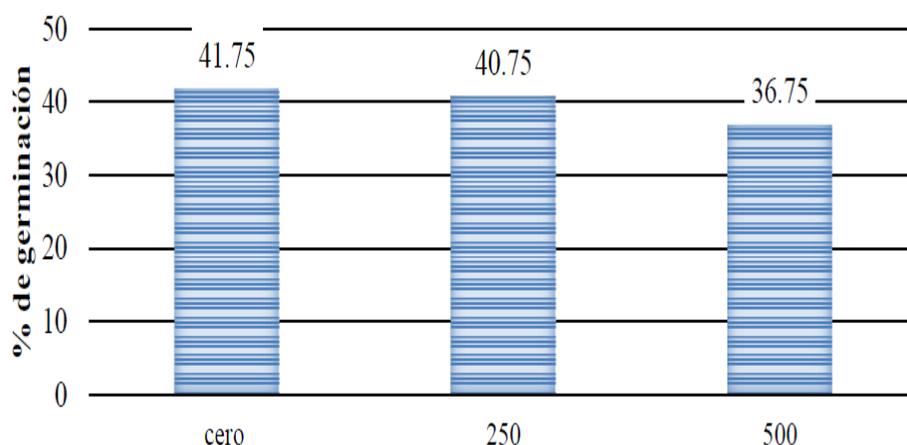
Al comparar el promedio de las germinaciones obtenidas a los 30 día en los tratamientos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 = 35.5 % vs el promedio de aquellas obtenidas a los 7, 8, 9, 10, 11 y 12 = 44 %., se observa que el efecto del corte promediado en todos los niveles del factor tiempo de remojo y del factor dosis de AG3 superó en 8.5 puntos de porcentaje, al correspondiente obtenido en semilla sin corte. (ver Figura 12). El hecho de haberse obtenido el mayor porcentaje de germinación en el testigo con corte (57%) en comparación con la del testigo sin corte (32%) indica que el corte de la semilla de chirimoya, en la zona micropilar, favorece su más rápida germinación.



**Figura 12.** Comparación del efecto del corte de la semilla en promedio de los niveles del factor tiempo de remojo y del factor dosis de AG3, en la germinación a los 30 días.

La comparación del promedio de germinación en los tratamientos 1, 2 y 3 (35.3%), con el obtenido en los tratamientos 7, 8 y 9 (49.3%), muestra que el efecto del corte en promedio de los tres niveles de AG3 en semilla sin remojo, fue superior en 14 puntos de porcentaje al correspondiente a semillas sin corte. Esta diferencia se redujo a sólo 3 puntos de porcentaje en semillas remojadas por 5 días (35.66% versus 38.66%). Esto indicaría que, el remojo de la semilla por 5 días, es innecesario.

La comparación de los promedios de los tratamientos 1, 4, 7 y 10 (41.75%) con los de los tratamientos 2, 5, 8 y 11 (40.75%) y 3, 6, 9 y 12 (36.75) indican que en promedio de los factores corte y tiempo de remojo, la adición de ácido giberélico, no mejoró la germinación, notándose más bien, una disminución en la concentración de 500 ppm. (ver Figura 13)



**Figura 13.** Comparación del efecto del AG3 en promedio de los tratamientos de corte y remojo de la semilla, en la germinación, a los 30 días.

Baskin y Baskin (2001, 2004), mencionan que la escarificación mecánica se emplea para vencer la dormancia física causada por la presencia de una o más capas impermeables de células en palisada, denominadas osteoesclereidas, en la cubierta seminal de la semilla. En nuestro caso se empleó el corte en el extremo micropilar, para facilitar el ingreso de agua en la semilla y acelerar la germinación.

Ledo y Cabanelas (1997) indican que los procesos de escarificación en las semillas de guanábana aumentan la germinación. Lobo et al. (2007), no detectaron latencia exógena en semillas tanto de *A. muricata* como de *A. cherimola*, pues ambas imbibían agua; empleando la prueba de tetrazolio determinaron que en ambas especies existe alrededor de un 20% de unidades no viables en el conjunto de semillas aparentemente normales; también se

determinó que ambas especies tenían embriones poco desarrollados a la madurez del fruto, por lo que requieren de la postmaduración para germinar. Dicha post maduración la lograron con estratificación caliente-húmeda a 25 °C por 90 días. La imbibición con 800 ppm de AG3, causó la mayor germinación, en ambas especies (83.3% en chirimoya y 62.5 en guanábana); la incubación de las semillas, luego de la aplicación de la hormona, mejoró la germinación en chirimoya (91.7%) pero redujo la de guanábana (54.2%)

Los datos obtenidos para la germinación, fueron cercanos a lo reportado por Rojas, et al (2005), con la aplicación de AG3 a la concentración de 350 ppm por 24 horas, siendo el testigo el que logro el mayor porcentaje (41.4%). También se encontró que el almacenaje mejora la germinación. Baskin y Baskin (2001) señalan que para realizar una evaluación del porcentaje de germinación, esta se tiene que hacer en un tiempo de 30 días, y que las semillas que germinan después, se consideran con latencia. Por otro lado, el paso evolutivo que realizaron en su domesticación y el mecanismo de dispersión de la germinación en el tiempo, aseguraron la genética de la especie (Foley, 2001 y Gepts, 2002).

Vázquez et al. (1997) comentan que la cantidad de agua que requiere una semilla y la velocidad con que la absorben, no solo depende de sus características morfológicas sino también de las fisiológicas, como la permeabilidad de la testa, sus compuestos químicos que se mantienen como reserva, el tamaño y su contenido de humedad, siendo factores muy importantes las condiciones edafoclimaticas y el ambiente.

#### **d. Evaluación del peso (gr) y longitud (cm) de las plántulas a los 30 días**

En el Cuadro 6 se aprecia la influencia del corte en la semilla en el crecimiento del embrión, a los 30 días. Tanto la longitud de plántula como el peso fresco de plántula de semillas con corte, en promedio para tiempo de remojo en agua como para concentración de AG3, fueron superiores en semillas con corte (20.78 cm vs 17.60 cm) y 9.74 gr vs 6.73 gr, respectivamente. La no existencia de diferencias significativas entre los tratamientos 7, 8, y 9 indica que la inmersión en AG3 en semilla cortada, no tuvo influencia en el crecimiento del embrión, mientras que, en semilla sin corte, la inmersión en AG3 a la dosis de 500 ppm tuvo un efecto negativo significativo en el crecimiento del embrión. El remojo de la semilla en agua por 5 días, en semillas con corte y sin corte, tampoco mejoraron el crecimiento del embrión.

**Cuadro 6.** Promedio de longitud (cm) y peso fresco (gr) de plántulas a los 30 días.

Trat.	Condición de la semilla*	Tiempo de remojo (días)	Concentración de AG3 (ppm)	Longitud de plántula (cm)		Peso fresco de plántula (gr)	
1	SC	0	0	17.81	BC**	5.61	B**
2	SC	0	250	21.89	AB	7.48	B
3	SC	0	500	15.49	C	6.85	B
4	SC	5	0	15.57	C	6.85	B
5	SC	5	250	17.48	BC	7.32	B
6	SC	5	500	17.39	BC	6.31	B
<b>PROMEDIOS</b>				<b>17.60</b>		<b>6.73</b>	
7	CC	0	0	23.96	A	13.28	A
8	CC	0	250	21.54	AB	9.17	B
9	CC	0	500	18.92	ABC	9.47	AB
10	CC	5	0	15.80	C	8.84	B
11	CC	5	250	22.30	AB	8.44	B
12	CC	5	500	22.20	AB	5.68	B
<b>PROMEDIOS</b>				<b>20.78</b>		<b>9.74</b>	

• SC = Sin corte; CC = Con corte

\*\* Dentro de cada columna correspondiente a los datos de longitud y de peso fresco de plántulas, que contienen una letra en común, no son significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ).

Los resultados obtenidos fueron cercanos a los de Rojas et al (2005), quienes reportaron un promedio de altura de las plántulas de 22 cm. Bautista, (2014) investigó diferentes tratamientos para la escarificación bajo invernadero obteniendo una altura promedio de 9.92 cm, debido a que el invernadero estaba en sombra y la chirimoya es una planta que requiere luz, y es por medio de la fotosíntesis que obtiene la energía por ser una planta heliófita con demanda de iluminación intensa.

Los resultados del presente ensayo no concuerdan con los resultados obtenidos por Vargas (citado por Castro, (2007), quien con la sumersión de las semillas por 24 horas en una solución del biorregulador ácido giberélico, a una concentración de 100 ppm obtuvo 83,2% de germinación, no mencionándose la temperatura de germinación, ni el tipo de AG empleado. Tampoco concuerda con los resultados obtenidos por Castro (2007), quien al comparar la escarificación con esmerilado y sin esmerilar obtuvo porcentajes de germinación de 0, 33.3, 52.8, 81.6 y 91,7% de germinación a los 5, 10,15, 20 y 25 días, respectivamente para las semillas esmeriladas en comparación con 0, 19.3, 28.5, 48.1 y 54.7%, para las semillas sin esmerilar, a los mismos días. En dicho trabajo no se menciona la temperatura

empleada, y los resultados son algo dudosos, pues se menciona que en chirimoya alrededor del 20% de las semillas son vanas, siendo imposible obtener germinaciones superiores al 80%. Sin embargo, hay concordancia en cuanto a que 22 días es un tiempo suficiente para evaluar la germinación en esta especie.

**4.3. Segundo ensayo: Efecto del corte y tiempo de almacenaje (2, 70 y 120 días) sobre el contenido de humedad y la germinación de semillas de chirimoya, a temperatura de 30°C.**

**a. Porcentaje de humedad de las semillas frescas y almacenadas por 2, 70 y 120 días a condiciones ambientales.**

Para determinar el porcentaje de humedad de la semilla de chirimoya, siguiendo el procedimiento de la ISTA (2016), para semillas duras; se empleó el método de la estufa a 105°C por 24 horas. Los resultados se muestran en el Cuadro 7, (semilla fresca: 42.19%, semillas con 70 días con 22.23% y semilla almacenada por 120 día: 11.16% de humedad).

**Cuadro 7.** Porcentaje de humedad de semillas a los 2, 70 y 120 días de almacenaje.

Días de Almacén.	Repeticiones	% de humedad	Promedio
120 días	1	11.19	11.16
	2	11.18	
	3	11.12	
70 días	1	23.50	22.23
	2	21.35	
	3	21.85	
2 días	1	40.77	42.19
	2	41.55	
	3	44.27	

Los datos obtenidos son parecidos al obtenido por Lobo et al (2007), quienes estandarizaron un protocolo de secado, para obtener una curva de pérdida del agua contenida en semillas de chirimoya y de guanábana. Para ello, utilizaron cámaras herméticamente selladas, con sílica gel en el fondo en proporción 1:1 (peso de semilla a peso del desecante), y mantenidas a una temperatura entre 25 y 30°C. En estas cámaras, se colocaron grupos de 100 semillas, a las cuales se les determinó el contenido inicial de humedad. Se obtuvo un contenido de humedad del 7% en las unidades de propagación de chirimoya luego de 128 horas y de 145 horas en guanábana, a partir de contenidos iniciales de humedad de 33,6 y 36,5%, respectivamente.

**b. Resumen de los ANOVA's, del porcentaje de germinación de las semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días, en los seis tratamientos evaluados**

En el Cuadro 8, se puede apreciar que los ANOVA's de los porcentajes de germinación a los 14, 22 y 30 días, en los seis tratamientos evaluados, muestran la existencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos, en cada uno de los momentos de evaluación de la germinación, siendo los promedios de germinación 22.7%, 35% y 38.8 %, a los 14, 22 y 30 días, respectivamente. Al igual que en el primer ensayo, los coeficientes de variación también pueden clasificarse como medios y con buena precisión, por estar comprendidos entre 10 y 20% (Gomes, 2009)

**Cuadro 8.** Significancia estadística de los porcentajes de germinación a los 14, 22 y 30 días, de los seis tratamientos evaluados: (con y sin corte) y tiempo de almacenaje (0, 70 y 120 días)

Número de días para la evaluación de la germinación			
Fuentes de variación	14 Días	22 Días	30 Días
Tratamientos	0.0001**	0.0001**	0.0001**
Promedio	22.7	35	38.83
C.V	18%	13%	11%

F.V= Fuente de Variación; \*\*Altamente significativo; C.V=Coeficiente de Variación.

Las comparaciones de los promedios de germinación a los 14, 22 y 30 días, realizados con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ , para los seis tratamientos evaluados, se muestran en el Cuadro 9, y en forma gráfica en la Figura 14. A los 14 días, y en los tres tiempos de almacenaje, tanto en semillas con corte como sin corte, las semillas empiezan a germinar y el porcentaje de germinación aumenta con el tiempo, alcanzando su mayor valor a los 30 días.

Al comparar los testigos (tratamientos 1 y 4 se nota que definitivamente, el corte, mejora la germinación de las semillas de chirimoya. También se observa que, en promedio de los tres tiempos de almacenamiento y en los tres momentos de evaluación de la germinación, ésta es mayor en las semillas con corte en la zona micropilar (19%, 28% y 34.3% versus 26.3%, 42% y 43,3%) en semillas sin corte y con corte, para las evaluaciones de germinación, a los 14, 22 y 30 días, respectivamente.

El pequeño incremento en el porcentaje de germinación promedio, en semillas con corte a los 22 días, en comparación con la obtenida a los 30 días (42% versus 43.3%), se debió a la reducción de la germinación de las semillas con corte, almacenadas por 120 días (30%). Probablemente, el corte permitió un mayor ingreso de oxígeno al interior de la semilla, favoreciendo el desarrollo del embrión. Sin embargo, al prolongar el periodo de almacenaje en las semillas con corte, esto también permitió el ingreso de patógenos, que provocaron un descenso en la germinación.

Este descenso, fue menor en las semillas sin corte. El almacenaje a condiciones ambientales hasta por 120 días, en las semillas sin corte no afectó su germinación, mientras que el efecto positivo del corte disminuyó en semilla almacenada por 120 días. En vista de la tendencia observada en la reducción del porcentaje de germinación, con el tiempo de almacenaje, más allá de 70 días, tanto en semillas con corte y sin corte, puede decirse que el tiempo máximo de almacenaje de semillas de chirimoya, al medioambiente, es de 70 días.

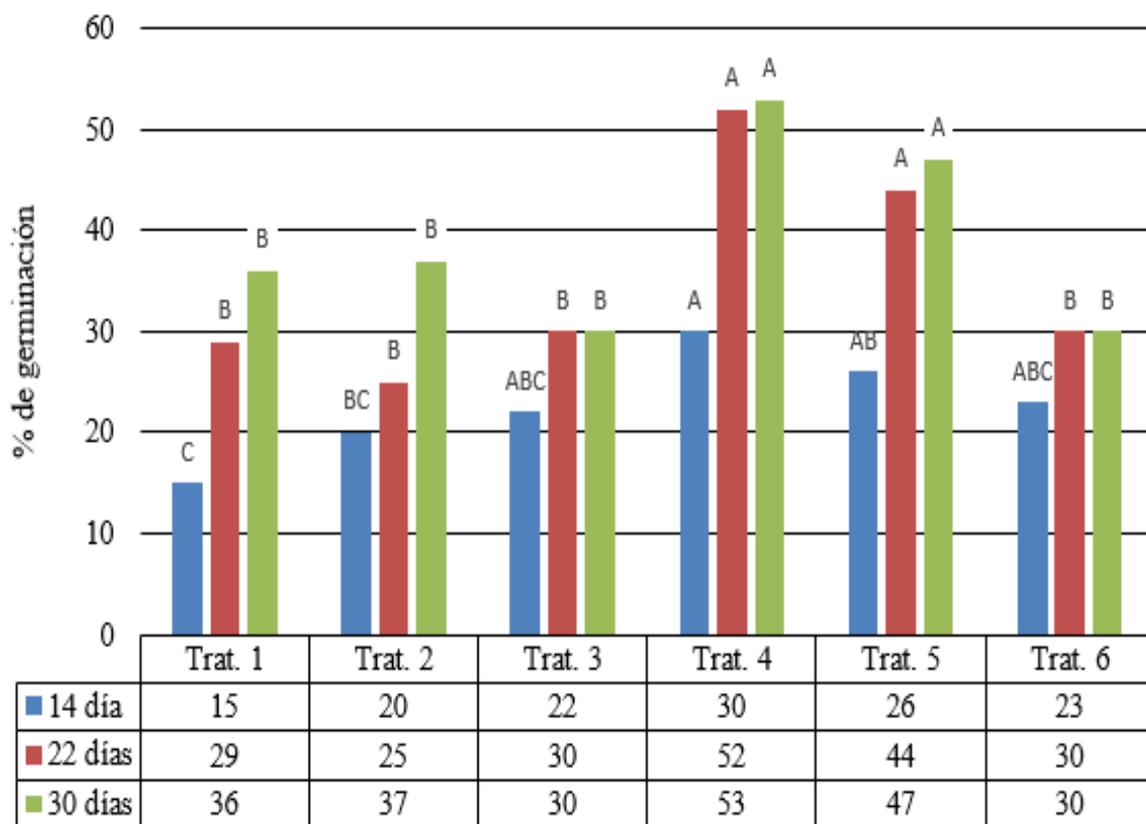
La concordancia entre los datos de germinación promedio y el porcentaje máximo de germinación obtenido en el primer ensayo a una temperatura de 25 °C (40% y 57%) y en el segundo ensayo (43.3% y 53%), respectivamente, podrían estar indicando que cualquiera de las dos temperaturas son adecuadas para evaluar la germinación de semillas de chirimoya.

**Cuadro 9.** Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya a los 14, 22 y 30 días, para los seis tratamientos evaluados.

Trat.	Condición de la semilla*	Tiempo de almacenaje (días)	% de germinación a los días indicados						Diferencia entre el % de germinación a los 30 y 22 días
			14**		22		30		
1	S/C*	0	15	C	29	B	36	B	+7
2	S/C	70	20	BC	25	B	37	B	+12
3	S/C	120	22	ABC	30	B	30	B	0
<b>PROMEDIOS</b>			<b>19</b>		<b>28</b>		<b>34.3</b>		
4	C/C*	0	30	A	52	A	53	A	+1
5	C/C	70	26	AB	44	A	47	A	+3
6	C/C	120	23	ABC	30	B	30	B	0
<b>PROMEDIOS</b>			<b>26.3</b>		<b>42</b>		<b>43.3</b>		

\* S/C = Sin corte; C/C = Con corte

\*\* Dentro de cada columna correspondiente a días, los datos de germinación que contienen una letra en común, no son significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tuckey ( $\alpha= 0.05$ )



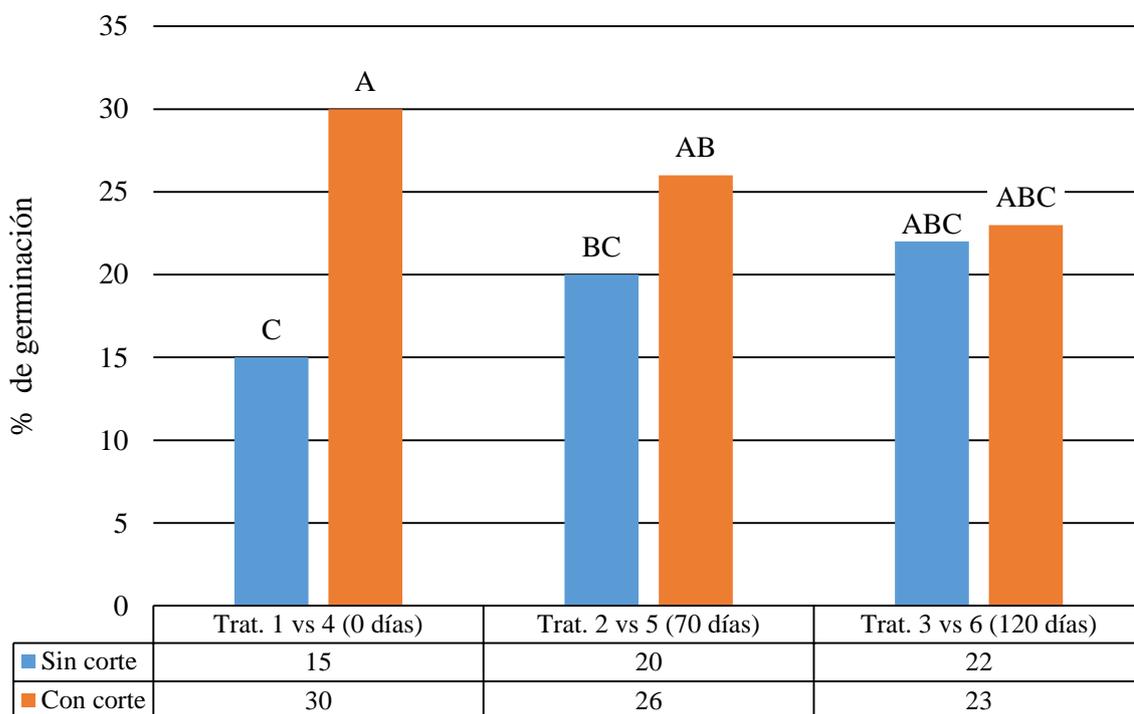
**Figura 14.** Porcentajes de germinación a los 14, 22 y 30 días, en los tratamientos evaluados.

### c. Comparación del promedio del porcentaje de germinación a los 14 días

La comparación entre los tratamientos 1 con 4 evalúa el efecto del corte y cero días de almacenamiento. El corte tubo efecto positivo aumentando el porcentaje de germinación (15 vs 30%) favoreciendo en 15 puntos de porcentaje a las semilla con corte. Esto, tal vez se debió a la latencia endógena, al contener la semilla un embrión inmaduro, lo que redujo el porcentaje de germinación.

La comparación entre los tratamientos 2 con 5, evalúa el efecto del corte en semillas almacenadas al medioambiente, por 70 días. Hubo una pequeña diferencia (seis puntos de porcentaje) a favor de las semillas con corte (20 vs 26%). Prácticamente no hubo diferencias en la germinación de semillas con corte y sin corte en semillas almacenadas por 120 días

(22% versus 23%), respectivamente. Estos resultados se muestran en forma gráfica en la Figura 15.



**Figura 15.** Comparación de los porcentajes de germinación a los 14 días en semillas con corte y sin corte.

**d. Significancia estadística de los tratamientos (condición de la semilla: con corte y sin corte y tiempo de almacenaje (0, 70 y 120 días)) en los ANOVA's para la longitud y peso fresco de las plántulas de *A. cherimola* Mill. a los 30 días**

En el Cuadro 10, se presenta la significación estadística de los tratamientos evaluados, en los ANOVA's para la longitud y el peso fresco de las plántulas a los 30 días. Dicho cuadro indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados, tanto para longitud como para el peso fresco de plántulas. Esto también se corrobora con los resultados de la comparación de promedios, empleando la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) (Cuadro 11). Los coeficientes de variación, también pueden clasificarse como medios y con buena precisión, por estar comprendidos entre 10 y 20% (Gomes, 2009)

**Cuadro 10.** Significancia estadística de los seis tratamientos evaluados, para las variables longitud y peso fresco de plántulas, a los 30 días.

Variables de respuesta		
Fuentes de variación	Altura (cm)	Peso (gr)
Tratamientos	0.0002**	<.0001**
Promedio	19.09	8.01
C.V	10%	19%

C.V= Coeficiente de Variación, \*\* = Altamente significativo.

#### e. Evaluación del peso (gr) y longitud (cm) de las plántulas a los 30 días

El corte de la zona micropilar de la semilla fresca de chirimoya (cero días de almacenamiento), tuvo un efecto positivo en la longitud y en el peso fresco (ambos indicativos de vigor) de la plántula producida a los 30 días, los cuales alcanzaron valores de 22.81 cm y 12.01 gramos para las semillas con corte, y 17.68 cm y 7.67 gramos para las semillas sin corte (ver el Cuadro 11). Esto puede deberse a la latencia del embrión o a la impedancia mecánica de la zona micropilar, que ofrece resistencia a la salida de la radícula. En la semilla fresca, con corte, se elimina dicha impedancia.

Al comparar los tratamientos 2 y 5 y 3 con 6, se nota que esta ventaja inicial del corte en semilla fresca, se va perdiendo paulatinamente con el tiempo de almacenaje, siendo más notoria en semilla almacenada por 120 días. Los resultados de estas comparaciones se resumen en forma gráfica en las Figuras 16 y 17.

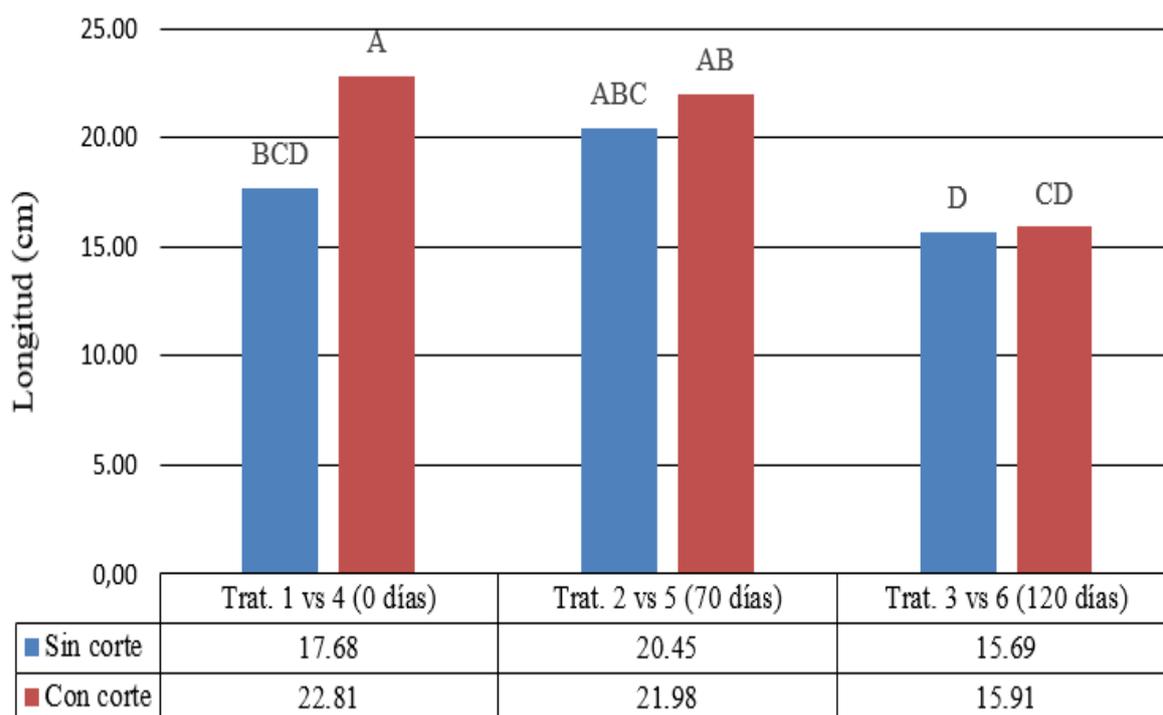
Esto puede deberse al proceso de deterioro fisiológico normal que ocurre en semillas almacenadas al medioambiente. Dicho proceso se califica como el proceso de las tres I' es porque es: Inexorable (todavía no existe una explicación concordada del porqué ocurre) Ineludible (no se puede eludir) e Irreversible (no se puede revertir) (Soplín, 2019, comunicación personal). Por ello, y en base a los datos del Cuadro 7, se recomendaría no almacenar al medioambiente, semillas de chirimoya, por más de 70 días, para no atentar contra el vigor de las plántulas producidas, tanto en semillas con corte como sin corte en la zona micropilar.

**Cuadro 11.** Promedio de longitud (cm) y peso fresco (gr) de plántulas a los 30 días, en los tratamientos evaluados.

Trat.	Condición de la semilla*	Tiempo de almacenaje (días)	Longitud de plántula (cm)**		Peso fresco de plántula (gr)	
1	Sin corte	0	17.68	BCD	7.67	BC
2	Sin corte	70	20.45	ABC	8.24	BC
3	Sin corte	120	15.69	D	4.9	C
<b>PROMEDIOS</b>			<b>17.94</b>		<b>6.94</b>	
4	Con corte	0	22.81	A	12.01	A
5	Con corte	70	21.98	AB	9.83	AB
6	Con corte	120	15.91	CD	5.43	C
<b>PROMEDIOS</b>			<b>20.24</b>		<b>9.10</b>	

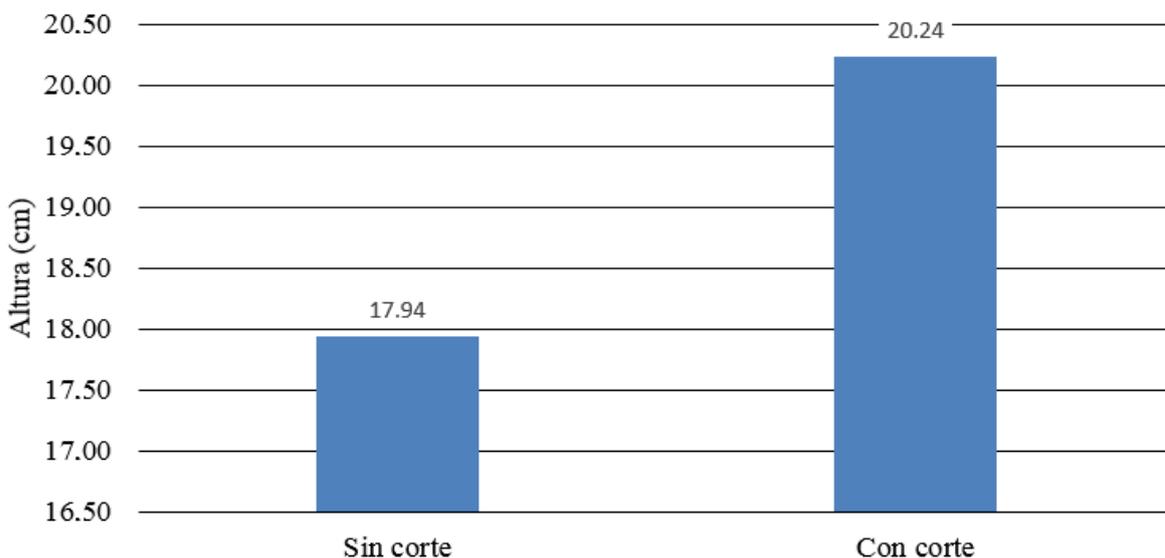
\* SC = Sin corte; CC = Con corte

\*\* Dentro de cada columna correspondiente a los datos de longitud y de peso fresco de plántulas, las que contienen una letra en común no son significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ).

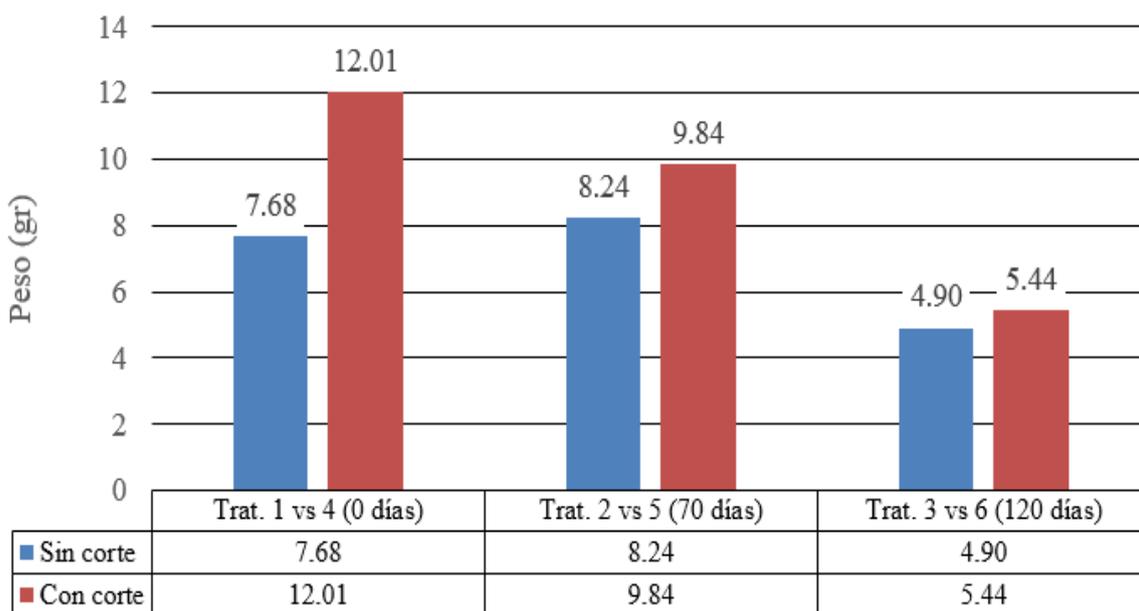


**Figura 16.** Comparación de promedios de longitud de plántula (cm) a los 30 días, en los tratamientos evaluados, según la prueba de Tukey a nivel de  $\alpha= 0.05$ .

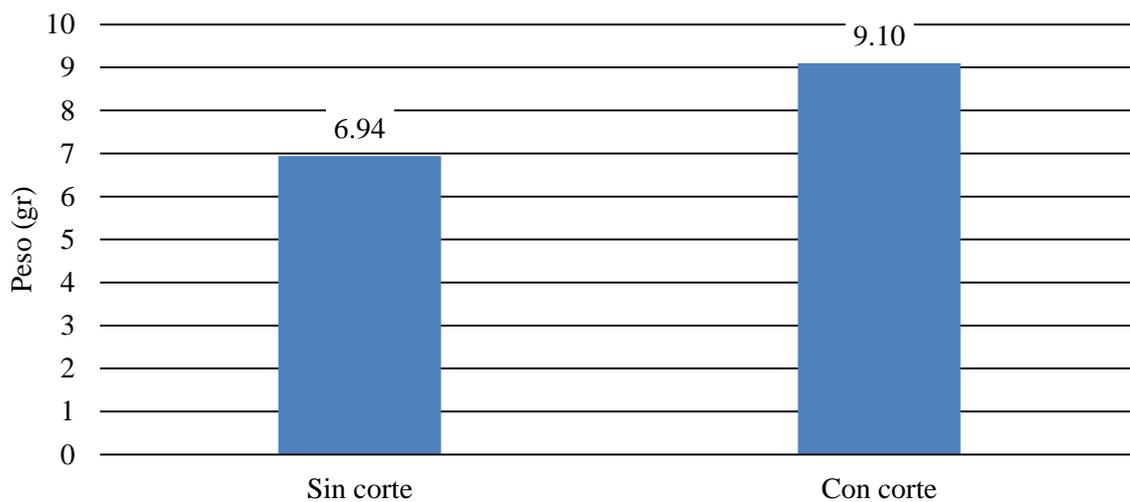
El promedio de los tratamientos 1, 2 y 3 = 17.94 cm vs el promedio 4, 5 y 6 = 20.24 cm entre el corte y sin corte se encontró que mejoró el crecimiento, teniendo una diferencia de 9.4 cm en semillas donde se realizó el corte, ver Figura 17.



**Figura 17.** Comparación de longitud de plántulas provenientes de semillas con corte y sin corte a los 30 días, en promedio de los tiempos de almacenaje.



**Figura 18.** Comparación de promedios de peso de las plántulas (gr), a los 30 días, en los tratamientos evaluados, según la prueba de Tukey a nivel de  $\alpha = 0.05$ .



**Figura 19.** Comparación de peso fresco de plántulas normales provenientes de semillas con corte y sin corte a los 30 días, en promedio de los tiempos de almacenaje.

Investigaciones realizadas por Hartmann y Kester, citado por Tirado (2008) señalan que la semilla en almacenamiento se encuentra en estado de vida latente, reduciendo su metabolismo, sin mostrar signos extremos de actividad en ella. Otra investigación realizada por Dornelles et al. (2002) indican que un aumento en la velocidad media de germinación (VGM) y en el porcentaje de germinación produce hasta tres meses de almacenamiento. Magalhães et al (2009), alcanzaron el 88%, con semillas de anona almacenadas a temperatura ambiente (máximo 25°C y una mínima 16.1°C.) recubiertas con papel durante 6 meses.

## V. CONCLUSIONES

1. Las características de la anatomía de la cubierta seminal, del endospermo y del embrión de la semilla de chirimoya, son semejantes a las reportadas por De Smet et al (1999) y Martínez et al (2012) en semillas de *Annona squamosa* L.
2. El contenido de humedad de la semilla fresca de chirimoya es de 42%, el cual en semillas almacenadas al medioambiente disminuye a 22% a los 70 días y a 11% a los 120 días.
3. Durante de la germinación a 25 o 30 °C, de la semilla de *A. cherimola* Mill., a los 8 días se rompe la testa, debido al incremento del tamaño del embrión; entre los 9 y 12 días se produce la emergencia de la radícula por el extremo micropilar; a los 20 días, previo a la elongación del hipocotilo y de la radícula, se inician las primeras raíces laterales y a los 30 días ya es posible discernir entre plántulas normales y anormales para el análisis de germinación.
4. La escarificación mecánica, cortando el extremo micropilar, acelera la germinación a 25 o 30°C, y por lo tanto, el vigor de las plántulas producidas a los 30 días, en términos de longitud y peso fresco.
5. Tanto el ácido giberélico, a las concentraciones de 250 y 500 ppm, ni el remojo de las semillas por cinco días, tuvieron efectos favorables en la germinación.
6. Las temperaturas de 25 o 30°C, son adecuadas, para evaluar la germinación de semillas de chirimoya.
7. Las semillas de chirimoya se pueden almacenar al medioambiente hasta por 70 días sin mayores pérdidas en su viabilidad. Transcurrido este tiempo máximo, se les debe cortar el extremo micropilar para acelerar su germinación.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Clasificar la semilla empleando una mesa gravimétrica para obtener una mejor calidad de semilla y poder tener mejores resultados.
2. Realizar otra combinación de hormonas más el corte de tegumento para reducir el tiempo de germinación al mínimo.
3. Realizar ensayos de emergencia en almacigueras empleando semillas con y sin corte del extremo micropilar tratadas y sin tratar con fungicidas, conocer si los resultados serían iguales o parecidos a los obtenidos en el presente ensayo.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Apolonio, I., Castañeda, A., Franco, O., Morales, E., Gonzales, A. 2015. Influencia de la fuente de polen y su efectividad en la calidad de frutos de chirimoya (*Annona cherimola* Mill). *Agronomía Costarricense* vol. 39(1) Pág.61-69.
2. Baskin, J., y Baskin, C. 2001. *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, California. 666 p.
3. Baskin, J., y Baskin, C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1-16.
4. Bautista, J. 2014. Evaluación de tratamientos pregerminativo para estimular la germinación en dos variedades de chiromiya (*Annona cherimola* Mill.) en la localidad de Torrepampa provincia Loayza. Universidad mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. Tesis de grado. 108 p.
5. Caballero, J. 2007. Evaluación del crecimiento, desarrollo y patrón de maduración de cinco genotipos de chirimoya (*Annona cherimola* Mill) con potencial comercial. Colegio de postgraduados. Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Tesis Maestro en ciencias. 82 p.
6. Castro, J.J. 2007. Cultivo de la anona (*Annona cherimola* Mill). Ministerio de agricultura y ganadería. Agencia de servicio agropecuarios de Aserri. San José – Costa Rica. 54 p
7. Cruz, E. 2002. Cultivo de Anona. Boletín Técnico No. 7. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, CENTA, El Salvador. 20 p.
8. De Smet, S., Van Damme, P., Scheldeman, X., Romero, J. 1999. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Acta Hortic.* 497, 269-288
9. Doria, J. 2010. Generalidades sobre la semilla: su producción, conservación y almacenamiento. Reserva científica del departamento de Fitotecnia. Cultivos tropicales. Vol. 31. (1): 74-85.
10. Dornelles, A., A. Lima y V. Campos. 2002. Avaliação do potencial de armazenamento de sementes de *Annona crassiflora* Mart, *Annona muricata* L.e

- Annona squamosa* L. Anais do 17° Congresso Brasileiro de Fruticultura, Belém, Brasil, CD-Rom.
11. Escobar, O. 1996. Polinización artificial en chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Escuela Agrícola Panamericana. Departamento de Horticultura. El Zamorano – Honduras. Tesis. Ing. Agrónomo. 34 p
  12. Ferreira, F.R. y Pinto A.C. de Q. 2005. Chapter: 8: Genetic Resources En: Williams, J.T., R.W. Smith, A. Hughes, N. Haq y C.R. Clements. (eds.). *Annona* species. International Centre for Underutilized Crops, University of Southampton. 284 p.
  13. Filgueiras, J., Ferreira, G., Sheila, Z., Braga, L., Sousa, M. 2010. Germination of Atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) CV. Gefner seeds subjected to treatments with plant growth regulators. International Journal of Science and Nature. Vol. 1 (2): 120-126.
  14. Finch-Savage, W., and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171(3): 501-523.
  15. Foley, M.E. 2001. Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Sci.* 49, 305-317.
  16. George, A., and Nissen, R. 1987. Effects of cincturing, defoliation and summer pruning on vegetative growth and flowering of custard apple (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*) in subtropical Queensland. *Aust. J. Exp. Agr.* 27: 915 – 918.
  17. Gepts, P. 2002. A comparison between crop domestication, classical plant breeding and genetic engineering. *Crop Sci.* 42, 1780-1790.
  18. Gimenez, J., Ferreira, G., and Cavariani, C. 2014. Tetrazolium test for assessment of seed viability of Atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). *Journal of Seed Science* 36(3): 357-361
  19. Gomes, F.P. 2009. Curso de estadística experimental. 15. Ed. Piracicaba: Esalq, 477p.
  20. Gonzales, M. 2013. Chirimoya (*Annona cherimola* Mill), frutal tropical y subtropical de valores promisorios. *Cultivos tropicales* 34 (3): 52-63.
  21. Guerrero, E. 2005. Estudio sobre el manejo integrado del cultivo del anón (*Annona squamosa* L.) en el municipio de Apulo, Cundinamarca. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 54 p.
  22. Guerrero, M. 2012. Estudios de factibilidad para la producción, y comercialización de chirimoya (*Annona cherimola* Mill), ecotipo T61 Tumbaco – Pichincha.

- Universidad San Francisco de Quito. Proyecto de tesis de ingeniero Agroempresas. 122 p
23. Hartmann, H.; Kester, D., 1980. Propagación de plantas, principales y prácticas continental. México. 98p.
  24. Hayat, M.A. 1963. Morphology of seed germination and seedling in *Annona squamosa*. Botanical Gazette, v.124, p.360-362.
  25. Hong, T.D., Linington, S. and Ellis, R.H. 1996. Seed storage behaviour: a compendium. Handbook for Genebanks No. 4. International Plant Genetic Resources Institute, Roma. 104 p.
  26. Irigoyen, J. 2004. Guía técnica del cultivo de la anona. Programa nacional de frutales de el Salvador. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). MAG (Ministerio de Agricultura y ganadería). 36 p
  27. ISTA. 2016. Internacional Seed Testing Association. Reglas internacionales para el análisis de las semillas.
  28. Ledo, A.S. y C.I.L. Cabanelas. 1997. Superação de dormência de sementes de graviola (*Annona muricata* L.). Revista Brasileira de Fruticultura 19(3), 397-400.
  29. Lobo, M., Delgado, O., Cartagena, J.R., Fernández, E., y Medina, C.E. 2007. Categorización de la germinación y latencia en semilla de chirimoya (*Annona cherimola* Mill) y guanábana (*Annona muricata* L.) como apoyo a programas de conservación de germoplasma. Agronomía Colombiana. 25(2): 231-244.
  30. Mabberley, D. J. 1990. The plant-book. A portable dictionary of the higher plants. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 707 p.
  31. Magalhães, O., R. de Oliveira, S. de Oliveira, Santos, V. y da Silva, J. 2009. Armazenamento de sementes de *Annona squamosa* L. Biotemas, 22 (4): 33-44
  32. MAGAP, (Ministerio de Agricultura Ganadería Ambiente y Pesca) 2010. III Censo Agropecuario. Disponible en: [www.magap.gop.ec](http://www.magap.gop.ec).
  33. Martínez, F.E. 2012. Caracterización morfoanatômica de la semilla de anón (*Annona squamosa* L.) y evaluación de algunos parámetros fisiológicos del proceso de germinación y latencia. Universidad Nacional de Colombia. Tesis Magister en ciencias agrarias, área fisiología de cultivos. 150 p
  34. Martínez, F.E., Miranda, D., y Magnitskiy, S. 2012. Germinación de semilla de anón (*Annona squamosa* L.). Revista Colombiana de ciencias hortícolas. 6(2): 129-139.
  35. MINAGRI. 2014. (Ministerio de Agricultura y Riego). Oficina de estudios económicos y estadísticos. Disponible en: <https://>

- [//www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1173/cap12/cap12.pdf](http://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1173/cap12/cap12.pdf). Pág. 961.
36. MOBOT, 2018. Jardín botánico de Misuri. En línea. Disponible en: <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html>
  37. Morton, J. 1987. Sugar apple (*Annona squamosa*). In: Morton, J. (Ed.). Fruits of warm climates. Creative Resources Systems Inc. Miami. Pages 69-72.
  38. Nakasone, H. y R. Paull. 1998. Tropical fruits. Crop production science in horticulture series. CAB International, Londres. pp. 45-75.
  39. Nikolaeva, M.G. 1969. Physiology of deep dormancy in seeds. Izdatel'svo "Nauka" Leningrad. National Science Foundation, Washington D.C.
  40. Orozco, A.F., Franco, N., y Taborda, L. 2010. Evaluación de tres métodos de escarificación en semilla de algarrobo (*Hymenaea courbaril* L). Rev. Invest. Universidad del Quindío– Colombia. 20: 36-41.
  41. Rojas, C., Vidal, E., Marroquin, L., y Segura, S. 2005. Evaluación de la calidad y tratamientos pregerminativos en semilla de dos selecciones de chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de fitotecnia. México. Disponible en: <http://www.cedaf.org.do/eventos/isth2005/memoria/Martes/PDF/08.pdf>
  42. Sánchez, C. 2011. Ficha técnica del cultivo de chirimoya. Lima. Perú. Gobierno Regional de Lima. Dirección Regional de Agricultura Lima.
  43. Setten, K. y J. Koek-Noorman. 1992. Fruits and seeds of Annonaceae. Morphology and its significance for classification and identification. Bibliotheca Botanica, v.142, p.1-101.
  44. Soplín, V. 2019. Curso de Fisiología de cultivo. Profesor principal de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima – Perú.
  45. Tirado, C. 2008. Evaluación de tratamientos para estimular la emergencia en cuatro especies arbóreas forrajeras. Tesis de grado. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado Decanato de agronomía. Cabudare Venezuela. 76p.
  46. Trigoso, H. 2015. Propagación botánica de (*Annona muricata* L.) "Guanábana" bajo cuatro sustratos en Iquitos – Perú". Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Tesis Ing Agrónomo. 95 p.
  47. Vázquez, V.; Orozco, A.; Rojas, M.; Sanchez, V.; Cervantes, V. 1997. La reproducción de las semillas y meristemos. Edición I S.R. 1997 Fondo de cultura económica. México. 98p.

48. Vilatuña, C. 1998. Incremento del cuajado de frutos en chirimoya (*Annona cherimola* Mill) con polinización manual en la mañana y tarde. Escuela Agrícola Panamericana. Departamento de Horticultura. El Zamorano – Honduras. Tesis Ing. Agrónomo. 34 p.
49. Walter, J. W. 1971. Contributions for the Gray Herbarium. Pollen, Morphology, phytogeography and Phylogeny of the Annonaceae. Edit. Reed C., Rollins and K. Roby. 202 p.

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1:** Análisis de varianza del porcentaje de germinación a los 14 días, primer ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	11	1844	167.64	11.79	0.0001**
Error	36	512	14.22		
Total	47	2356			
C.V.	14%				
Promedio	26.5				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	11	1931.7	175.61	13.51	0.0001**
Error	36	468	13		
Total	47	2399.7			
C.V.	9.50%				
Promedio	37.91				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 2:** Análisis de varianza del porcentaje de germinación a los 30 días, primer ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	11	2209	200.81	12.29	0.0001
Error	36	588	16.33		
Total	47	2797			
C.V.	10%				
Promedio	39.75				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 3:** Análisis de varianza sobre longitud (cm) de las plántulas del primer ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	11	402.79	36.61	7.13	<.0001**
Error	36	184.91	5.13		
Total	47	587.71			
C.V.	11%				
Promedio	19.19				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 4:** Análisis de varianza sobre el peso (gr) de las plántulas del primer ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	11	198.75	18.06	7.34	<.0001**
Error	36	88.67	2.46		
Total	47	287.42			
C.V.	19%				
Promedio	7.94				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 5:** Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 14 días, segundo ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	5	525.33	105.06	6.39	0.0014**
Error	18	296	16.44		
Total	23	821.33			
C.V.	18%				
Promedio	22.7				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 6:** Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 22 días, segundo ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	5	2224	444.8	21.29	<.0001**
Error	18	376	20.88		
Total	23	2600			
C.V.	13%				
Promedio	35				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 7:** Análisis de variancia del porcentaje de germinación a los 30 días, segundo ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	5	1739.33	347.86	19.33	<.0001**
Error	18	324	18		
Total	23	2063.33			
C.V.	11%				
Promedio	38.82				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 8:** Análisis de varianza sobre longitud (cm) de las plántulas del segundo ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	5	191.1676	38.2335	8.88	0.0002**
Error	18	77.5126	4.3062		
Total	23	268.6802			
C.V.	10%				
Promedio	19.09				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación

**Anexo 9:** Análisis de varianza sobre el peso (gr) de las plántulas del segundo ensayo.

F.V	GL	S.C	C.M	F	P-valor
Tra.	5	143.1178	28.6235	11.59	<.0001**
Error	18	44.4608	2.47		
Total	23	187.5787			
C.V.	19%				
Promedio	8.01				

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ); C.V coeficiente de variación