

Determinación de la concentración del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en  
progenies de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo Pisífera mediante la técnica de  
rescate de embriones

Trabajo de grado modalidad pasantía de investigación presentado como requisito para obtener el  
título de Ingeniera Agrónoma

Autora

Diana Carolina Suarez Cárdenas

Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería Agronómica

Pamplona

2019

Determinación de la concentración del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en progenies de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo Pisífera mediante la técnica de rescate de embriones.

Trabajo de grado modalidad pasantía de investigación presentado como requisito para obtener el título de Ingeniera Agrónoma

Autora

Diana Carolina Suarez Cárdenas

Director

I.A. Rodrigo Andrés Ávila

Asistente de investigación Laboratorio cultivo de tejidos vegetales Cenipalma

Codirector

I.A. Andrés Tupaz Vera

Asistente de investigación Laboratorio de producción de semillas Cenipalma

Tutor académico

PhD. I.A. Ana Francisca González Pedraza

Universidad de Pamplona

Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería Agronómica

Pamplona

Barrancabermeja, 9 de diciembre de 2019

**Carta de aprobación y certificación para sustentación final del trabajo de  
grado modalidad pasantía de investigación.**

Señores:

Comité de Trabajo de Grado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Universidad de Pamplona

Cordial Saludo:

Por medio de la presente, hago constatar que la estudiante **Diana Carolina Suárez Cárdenas** realizó su trabajo de grado, modalidad: pasantía de investigación con el proyecto titulado **“Determinación de la concentración del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en progenies de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo pisífera mediante la técnica de rescate de embriones.”** previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, cumpliendo con las disposiciones establecidas.

Atentamente



I.A. Rodrigo Andrés Ávila Diaz-Granados

Asistente de investigación laboratorio de cultivo de tejidos vegetales Cenipalma  
**Tutor/director del trabajo de grado modalidad pasantía de investigación**

Pamplona, 6 de diciembre de 2019

Señores:

Comité de Trabajo de Grado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Universidad de Pamplona

Cordial Saludo:

Por medio de la presente, hago constar que la estudiante **Diana Carolina Suárez Cárdenas** realizó su trabajo de grado, modalidad: pasantía de investigación con el proyecto titulado "**Determinación de la concentración del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en progenies de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo pisífera mediante la técnica de rescate de embriones**" previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, cumpliendo con las disposiciones establecidas.

Atentamente



---

PhD. I.A. Ana Francisca González Pedraza

**Tutor/director del trabajo de grado**

## Agradecimientos

A Dios, hermoso creador, por darme fuerza, sabiduría, entendimiento y llenarme de muchas bendiciones.

A mis padres, por todo su amor, por su apoyo en cada etapa de mi vida y por sus consejos que me encaminaron por el camino correcto.

A mi esposo, por ser el amor de mi vida, por darme valor y fuerza en los momentos difíciles, por su paciencia y apoyo para lograr la culminación de este esfuerzo compartido.

Mis más sinceros agradecimientos al I.A. Rodrigo Andrés Ávila y I.A. Andrés Tupaz Vera, por la confianza, apoyo, dedicación y consejos en cada etapa de desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales y Producción de semillas de Cenipalma, por brindarme el espacio y todo lo necesario para el desarrollo del presente trabajo, por guiarme y compartir sus conocimientos para mi desarrollo profesional y personal.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Pamplona, por contribuir con mi formación como profesional.

A mis amigos y personas especiales, que desinteresadamente me apoyaron y estuvieron presentes a lo largo de toda la carrera y que de uno u otro modo contribuyeron con la realización de esta meta.

**Tabla de contenidos**

1.	Introducción.....	1
2.	Problema.....	3
2.1.	Planteamiento del problema .....	3
2.2.	Justificación.....	4
2.3.	Delimitación .....	5
2.3.1.	Espacial.....	5
2.3.2.	Temporal.....	6
3.	Objetivos .....	7
3.1.	Objetivo general.....	7
3.2.	Objetivos específicos .....	7
4.	Marco referencial .....	8
4.1.	Antecedentes.....	8
4.2.	Marco contextual .....	11
4.3.	Marco teórico.....	11
4.3.1.	Importancia .....	11
4.3.2.	Historia y desarrollo .....	12
4.3.3.	La palma de aceite en Colombia .....	13
4.3.4.	Tipos de frutos de la palma de aceite .....	13
4.3.5.	Mejoramiento genético en palma de aceite.....	14

4.3.6.	Cultivo de Tejidos .....	14
4.3.7.	Rescate de embriones .....	15
4.3.8.	Giberelinas .....	15
4.3.9.	Prueba de viabilidad .....	15
4.4.	Marco legal .....	16
4.4.1.	Palmicultor.....	16
4.4.2.	Protección de las variedades vegetales.....	16
4.4.3.	Régimen sanitario ambiental.....	17
4.4.4.	Ciencia y tecnología .....	17
5.	Metodología.....	18
5.1.	Diseño metodológico .....	18
5.1.1.	Población .....	18
5.1.2.	Muestra .....	18
5.1.3.	Diseño experimental.....	18
5.1.4.	Procesamiento y análisis de los datos. ....	19
5.1.5.	Introducciones .....	19
5.2.	Descripción de actividades.....	20
5.2.1.	Preparación del medio de cultivo.....	20
5.2.2.	Desinfección de almendras .....	21
5.2.3.	Prueba de viabilidad. ....	22

5.2.4. Extracción e introducción de embriones. ....	23
5.3. Evaluación de la concentración adecuada de AG <sub>3</sub> para la germinación de embriones de la progenie pisífera x pisífera .....	24
5.4. Respuesta de la progenie pisífera x pisífera frente a la técnica de rescate de embriones empleando la adición de la hormona AG <sub>3</sub> . ....	24
Las mediciones .....	24
6. Resultados y análisis. ....	26
6.1. Prueba de viabilidad.....	26
6.2. Concentración adecuada de AG <sub>3</sub> para la germinación de embriones de la progenie pisífera x pisífera. ....	27
6.2.1. Germinación.....	27
6.3. Respuesta de la progenie pisífera x pisífera frente a la técnica de rescate de embriones empleando la adición de la hormona AG <sub>3</sub> . ....	33
6.3.1. Longitud de plúmula.....	33
6.3.2. Longitud de radícula.....	35
7. Conclusiones Parciales .....	39
8. Recomendaciones .....	40
9. Bibliografía.....	41
Anexos .....	46

**Lista de Tablas**

Tabla 1. Introducción de embriones por experimento.....	19
Tabla 2. Análisis de varianza (Tratamiento).....	29
Tabla 3. Estadística descriptiva para la germinación. ....	30
Tabla 4. Análisis de varianza por repetición.....	31
Tabla 5. Prueba de Tukey. ....	31
Tabla 6. Estadística descriptiva desarrollo de plúmula. ....	34
Tabla 7. Estadística descriptiva desarrollo de radícula.....	37

## Lista de Figuras

Figura 1. Preparación medio de cultivo.....	21
Figura 2. Extracción y desinfección .....	22
Figura 3. Prueba de viabilidad.....	23
Figura 4. Extracción e introducción de embriones. ....	24
Figura 5. Mediciones. ....	25
Figura 6. a) viabilidad PxP-1056; b) viabilidad DxP-629.. ....	26
Figura 7. Germinación de los diferentes tratamientos establecidos. ....	27
Figura 8. Germinación de los diferentes tratamientos establecidos por cada repetición.. ....	28
Figura 9. Probabilidad de germinación.....	29
Figura 10. Intervalos de germinación vs Repetición.. ....	32
Figura 11. Germinación genotipo PxP-1056.....	32
Figura 12. Germinación genotipo DxP-629.....	32
Figura 13. Longitud de plúmula (mm). ....	33
Figura 14. Desarrollo plúmula semana 1. ....	35
Figura 15. Desarrollo plúmula semana 2. ....	35
Figura 16. Desarrollo plúmula semana 3.. ....	35
Figura 17. Desarrollo plúmula semana 4.. ....	35
Figura 18. Longitud radícula (mm).. ....	36
Figura 19. Desarrollo radícula semana 1.. ....	38
Figura 20. Desarrollo radícula semana 2.. ....	38
Figura 21. Desarrollo radícula semana 3.. ....	38
Figura 22. Desarrollo radícula semana 4.. ....	38



**Anexos**

Anexo 1. Formato de registro de ingreso de embriones.....	46
Anexo 2. Formato germinación.....	47
Anexo 3. Formato de mediciones y observaciones..	47

## Resumen

Las palmas de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo pisíferas, son utilizadas como parentales masculinos en los programas de mejoramiento genético siendo en promedio palmas infértiles que no producen fruto con semillas, no obstante, se encuentran palmas fértiles que carecen de endocarpio y tienen un embrión con baja probabilidad de germinación, debido a esto se hace necesaria la implementación de técnicas que favorezcan la obtención de ellas. En este contexto se implementó la técnica de rescate de embriones con la adición de ácido giberélico AG<sub>3</sub>, con el objetivo de romper la dormancia del embrión y aumentar el porcentaje de germinación. Se llevaron a cabo tres repeticiones. Cada una constó de un genotipo Pisífera PxP 1056 y un testigo Ténera DxP 629 con 6 tratamientos correspondientes a las dosis de AG<sub>3</sub> (0, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm) adicionados el medio de cultivo base Murashige Skoog, con 15 embriones por tratamiento, en donde se evaluó el porcentaje de germinación, longitud de plúmula y radícula. En la dosis de 40 ppm se logró una germinación del 40 % en PxP, y una germinación del 17% en DxP. La longitud de la plúmula en la dosis 20 ppm presentó 69,8 mm en DxP y 11,9 mm en PxP con la dosis 40 ppm. La longitud de la radícula para la dosis de 20 ppm en el genotipo DxP fue de 44,2 mm y de 7,3 mm en PxP con la dosis de 40 ppm; siendo la dosis de 40 ppm, en la que se obtuvo la mejor germinación, desarrollo apical y radicular.

## 1. Introducción

La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) es un cultivo oleaginoso perenne cultivado en regiones tropicales húmedas. La importancia agronómica de la palma de aceite radica en su alta capacidad para producir aceite, llegando a 5-7 toneladas/ha en condiciones óptimas. Con más de 8 millones de hectáreas cultivadas en el mundo, es la segunda mayor fuente mundial de aceite vegetal después de la soja (Balzon, Gomes y Scherwinski, 2013).

Una de las razones para aumentar la producción del aceite de palma es su aumento en la demanda de aceites vegetales y biocombustibles (Euler, Krishna, Schawarze, Siregar y Qaim, 2017). Es el cultivo oleaginoso más productivo, y se estima que alcanzará los 240 millones de toneladas para el 2050 (Tabí, Ngando, Ntsomboh y Youmbi, 2017).

La producción de aceite de palma se enfoca en la industria alimentaria y oleoquímica. Durante la última década, se ha presentado un amplio interés en la bioenergía, esto por las preocupaciones sobre el cambio climático, la creciente demanda de energía y el agotamiento de las reservas de combustibles fósiles (Tabí et al., 2016).

Las semillas de palma de aceite se caracterizan por ser recalcitrantes, por lo que la probabilidad de germinación es baja, y lenta, además de presentar una latencia física que retrasa la germinación, ocasionando que el embrión permanezca en estado dormante, hasta que sus estímulos de luz y oxígeno superen sus umbrales (Berjak y Pammenter, 2007). El largo período de germinación presenta un gran inconveniente para la producción y el suministro de plántulas a nivel comercial (Tabí et al., 2016).

Las palmas tipo pisíferas son utilizadas como parentales masculinos mediante el cruzamiento de palmas dura como parental femenino para la obtención de híbridos ténera (DxP) mediante el mejoramiento genético (Plata, Rey y Ayala, 2006).

La técnica de cultivo de tejidos tiene una favorable capacidad para la multiplicación de las progenies dura y pisíferas. El tiempo requerido para la obtención de plántulas mediante esta técnica es de 2 a 3 años desde el explantes hasta previvero. El cultivo in vitro en palma de aceite se ha considerado como una opción importante para el incremento de la productividad de este cultivo (Rocha, 2007).

El rescate de embriones cigótico es una técnica de producción de plántulas in vitro viable que ha registrado con éxito la germinación de plántulas en menor tiempo y producción de muchas especies de plantas que tienen dificultades en la germinación (Tzec-Sima, Orellana, y Robert, 2006). Siendo una alternativa para facilitar la propagación de materiales difíciles de germinar específicamente genotipos de palma de aceite tipo Pisífera.

El ácido giberélico es una hormona reguladora de crecimiento que tiene una función clave en el control de la germinación de las semillas y por ello son ampliamente utilizadas para promover o inducir la geminación de semillas en diversas especies de plantas (Amador, Díaz, Loza y Bivian 2013).

A partir de esto el presente proyecto pretende determinar la concentración apropiada de la hormona Ácido Giberélico ( $AG_3$ ) para el rompimiento de la dormancia en progenies de palma de aceite tipo Pisífera, con el fin de aumentar los porcentajes de germinación mediante la técnica de rescate de embriones.

## 2. Problema

### 2.1. Planteamiento del problema

La palma de aceite pertenece a la familia de las *Arecaceae*, ésta no produce brotes, por ende, el único método de propagación sexual es a través de las semillas (Tabí et al., 2017). Por lo general una cuarta parte de las especies de palmas requieren un plazo mayor de 100 días para germinar y durante este periodo se obtiene 20% de la germinación, esta condición de reposo es desventajosa en los programas de mejoramiento y de propagación comercial de las diferentes especies de palmas (Herrera y Alvarado, 2012).

La formación de la semilla se da a partir de la embriogénesis cigótica, que comprende los cambios morfológicos, estructurales y genéticos que se dan desde la formación del cigoto hasta el final de la maduración del embrión. Muchas plantas producen semillas que son incapaces de germinar, antes de su dispersión. Las semillas dormantes carece de la capacidad para germinar en un periodo de tiempo concreto, aun si se encuentran en condiciones óptimas para su germinación (Matilla, 2008).

La germinación de la semilla del género *Elaeis* comúnmente se induce a partir de un lavado, donde las semillas se someten a un tratamiento de calor a 40°C durante 60 días y con una humedad controlada del 18%. Cuando el contenido de humedad de la semilla se eleve al 22%, se puede esperar una buena germinación hasta del 90% (Rajanaidu, 1995). La técnica de rescate de embriones es una alternativa dentro del cultivo de tejidos, que permite el rompimiento de la latencia de las semillas (*Elaeis guineensis* y *Elaeis oleífera*), logrando un acortamiento en la fase de germinación, minimizando los problemas patológicos durante el proceso tradicional y a su vez favoreciendo la obtención de parentales de alta valor agronómico y promisorios como los tipo pisífera (Plata et al., 2006).

Por lo anterior, se pretende encontrar la manera de romper la latencia de las semillas de palma de aceite tipo pisíferas, por medio de la técnica de rescate de embriones, ya que esta se presenta como una alternativa al método de calor seco, en el rompimiento de la latencia de las semillas (*Elaeis guineensis* y *Elaeis oleiferas*); además de que posibilita un acortamiento en la fase de germinación y minimiza los problemas patológicos durante el proceso tradicional.

## **2.2. Justificación**

La palma de aceite es una especie monoica que produce inflorescencias unisexuales masculinas o femeninas en ciclos sucesivos, que emergen en la axila de cada hoja. Las inflorescencias femeninas crecen en racimos que poseen entre 200 y 4.000 frutos (Billotte et al., 2016).

La incapacidad de germinar de una semilla viable para completar la germinación bajo condiciones favorables, se denomina dormancia. Walck, Hidayati, Dixon, Thompson y Poschlod (2011) indican que los factores críticos para el inicio y ruptura de la dormancia son la temperatura y la disponibilidad de agua.

Las semillas presentan dos factores afectan su germinación, intrínsecos y extrínsecos. Los intrínsecos pueden ser embriones fisiológicamente inmaduros, embriones rudimentarios; embriones anatómicamente inmaduros, presencia de tegumentos duros, viabilidad de las semillas la cual depende de las condiciones de almacenamiento y del tipo de semilla, su fisiología, longevidad. Y los extrínsecos agua, gases, temperatura y luz (Doria, 2010).

La palma de aceite presenta tres tipos de frutos, dependiendo del espesor del cuesco. El tipo Dura, tiene una producción de aceite baja, puesto que la capa del mesocarpio es pequeña, debido a su grueso cuesco. Ténera cuenta con más mesocarpio y su cuesco más delgado, por consiguiente, más aceite. La palma Pisífera, no presenta cuesco, la capa del mesocarpio es más

gruesa que dura y ténera, pero no se siembra a nivel productivo, debido a que generalmente es estéril y no produce racimos (Billotte et al., 2016). Las palmas tipo Pisífera en general son infértiles, presenta fruto sin cuesco, pero en la actualidad hay pisíferas plenamente fértiles, que carecen de cuesco y poseen un embrión desnudo con un porcentaje bajo de germinación mediante los métodos tradicionales de germinación de semillas (Tupaz, Ayala y Romero, 2019).

Las giberelinas (GAs), actúan como reguladores endógenos del crecimiento y desarrollo en los organismos vegetales superiores. Existen más de 130 GAs descubiertas en plantas y hongos, pero muy pocas son formas bioactivas, como GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub> o GA<sub>4</sub>. Se han identificado aproximadamente 112 giberelinas diferentes, nombradas sucesivamente GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub>, GA<sub>3</sub>, etc., de éstas la única con valor comercial es la GA<sub>3</sub> o AG<sub>3</sub> y se conoce como ácido giberélico (Gonzales, Caycedo, Velásquez, Flores y Garzón, 2007).

La función reguladora de crecimiento que se le otorga a las GAs se sustenta en que son compuestos orgánicos naturales de las plantas, mientras que su uso externo radica en una gran variedad de respuestas en el desarrollo. La estimulación del crecimiento del tallo es posiblemente el efecto más claro, vía alargamiento celular (Amador, Díaz, Cornejo y Bivian 2013). Su importancia también radica en la inducción del rompimiento de la latencia de las semillas, permitiendo la germinación y crecimiento del embrión (Vásquez et al., 2019).

## **2.3. Delimitación**

### **2.3.1. Espacial**

El proyecto de investigación se llevará a cabo, en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales (fase *in vitro*) con las semillas provenientes del Laboratorio de Producción de Semillas del Centro de Investigación en Palma de aceite (CENIPALMA), ambos se encuentran dentro del Campo Experimental Palmar de la Vizcaína, ubicado en el Km 32 Vía la Lizama, Corregimiento

Peroles, Troncal del Magdalena Medio, Barrancabermeja, San Vicente de Chucurí-Santander. Ubicándose a una altitud de 125 metros sobre el nivel del mar (msnm), con una temperatura media de 34 °C, una humedad relativa de 70,5% y una precipitación media anual de 2.852 mm (Cenipalma, 2019).

### **2.3.2. Temporal**

El tiempo que se considera necesario para el desarrollo del proyecto de grado modalidad pasantía comprende un período aproximado de cuatro meses, dentro del cual se estima todo lo referente a recopilación de material bibliográfico sobre la especie en estudio, diseño del plan de trabajo y cronograma de actividades, periodo de pruebas y análisis, registros de los avances de la investigación y resultados finales.

### 3. Objetivos

#### 3.1. Objetivo general

Determinar la concentración adecuada del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en progenies de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo pisífera mediante la técnica de rescate de embriones.

#### 3.2. Objetivos específicos

Identificar la concentración adecuada de AG<sub>3</sub> para la germinación de embriones de la progenie Pisífera x Pisífera

Evaluar la respuesta de la progenie Pisífera x Pisífera frente a la técnica de rescate de embriones empleando la hormona AG<sub>3</sub>.

## 4. Marco referencial

### 4.1. Antecedentes

Tabi et al. (2016) evaluaron el potencial de germinación *in vitro* de embriones cigóticos maduros (MCE) de 10 cultivares de palma aceitera de Ténera (CV 1–10) *in vitro*. La aptitud de germinación de MCE se probó en 10 medios de cultivo modificados Murashige y Skoog (MS) (CM1-10). Los diez CV mostraron una respuesta positiva a la germinación entre 7 y 20 días. No obstante, se notaron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) en el porcentaje de germinación y organogénesis entre CV y medios de cultivo. CV1 y CV5 obtuvieron la mayor tasa de germinación (90%), mientras que la menor tasa de germinación del 14% se registró en CV8. El medio de cultivo más adecuado (CM5) registró un 72% de germinación, mientras que el menor (48%) se observó en CM1 y CM8. Las plántulas más robustas con diferenciación completa en un eje de brote y raíz ocurrieron en CM2, CM5, CM7 y CM10.

Hernández, Salazar y Restrepo (2013), analizaron sobre el rescate de embriones como alternativa para la obtención de vitroplantas de vid (*Vitis vinífera* L.). Las semillas se desinfectaron sumergiéndolas en 5 g/L de ácido dicloroisocianúrico (NaDCC) por 15 min y luego en 2 g/L de Benomyl® por 15 min, con una efectividad del 92%. Se realizaron diferentes tratamientos para la obtención de plántulas utilizando semillas como explantes, las cuales se cultivaron en el medio MS suplementado con diferentes concentraciones de ácido indolacético (AIA) en combinación con ácido giberélico ( $AG_3$ ) y kinetina (KIN) sin obtener respuesta favorable para la germinación. Como alternativa, se extrajeron semillas inmaduras de frutos de la planta y se colocaron en el mismo medio, pero suplementado con 100 mg/L de polivinilpirrolidona (PVP), 0,35 mg/L de  $AG_3$  y 1,75 mg/L de AIA por un mes. Posteriormente, se abrieron las semillas y se realizó el rescate de embriones, sembrándolos bajo condiciones de

oscuridad por ocho días en los medios de cultivo MS 1 y 2 modificados, encontrando la formación de vitroplantas en un 40% al mes de cultivo.

Medeiros, Oliveira, Willadino y Santos, (2015) examinaron aumentar la germinabilidad, analizar la morfología de las plántulas y evaluar el rendimiento de las plantas jóvenes bajo un déficit hídrico. Utilizaron inmersión en agua y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) como tratamientos de pregerminación y analizaron las relaciones de agua, intercambio de gases, fluorescencia de clorofila y componentes de equilibrio de carbono de plantas jóvenes en condiciones de sequía y rehidratación. La inmersión de pirenos en solución de AG<sub>3</sub> 0,3 mm durante 24 h mejoró la emergencia y supervivencia de las plantas y el índice de tasa de emergencia. Las plantas exhibieron una alta tolerancia a la falta de riego durante 37 días, lo que se atribuyó al fuerte control del estoma, una mayor proporción de disipación de energía y un mayor contenido de pigmentos fotoprotectores. A pesar de la conductancia estomática, la tasa fotosintética se mantuvo alta durante todo el día, lo que indica una baja correlación entre estos dos parámetros.

Mehalaine, Menasria, Bouguessa y Yahia (2017) investigaron el comportamiento de germinación de semillas de tres plantas medicinales: *Thymus algeriensis* Boiss & Reut., *Rosmarinus officinalis* L., *Marrubium vulgare* L. y evaluaron el efecto del ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) en la ruptura de la semilla. Las semillas se esterilizaron en solución de hipoclorito de sodio al 5% (NaOCl) y se sometieron a dos experimentos. Primero, un examen de la capacidad de germinación de las semillas sin pretratamiento incubando las semillas a temperatura ambiente (23±2°C) y oscuridad continua. En segundo lugar, las semillas fueron tratadas con varias dosis de AG<sub>3</sub> (125, 250, 500 mg/L) e incubados en termoperíodo (25°C/16h, 15°C/8h) y oscuridad continua. Del experimento uno, las semillas de *T. algeriensis* presentaron el mayor porcentaje de germinación (94,43%) seguido de *M. vulgare* (57,76%). Sin embargo, las semillas de *R.*

*officinalis* no germinaron. El tratamiento con AG<sub>3</sub> no exhibió ningún efecto significativo ( $P > 0,05$ ) sobre la germinación de las tres plantas analizadas. Además, las tasas de germinación más altas se observaron en semillas de *T. algeriensis* (80 y 100%) y *M. vulgare* (53,3, 73,3 y 86,7%). Las semillas de *R. officinalis* presentaron tasas de germinación muy bajas con (3,3, 6,7 y 16,7%).

Rodríguez et al., (2016) estudiaron los efectos de bencilaminopurina (BAP), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) y fluridona (FLU) sobre la germinación in vitro de murtila (*Ugni molinae*). La semilla de murtila presenta una fuerte dormancia, razón por la cual se realizaron dos ensayos a fin de mejorar la germinación. Los resultados indican que FLU, un inhibidor de la síntesis de ABA, fue el más eficaz en romper la dormancia. La combinación de 10  $\mu$ M de FLU con BAP o AG<sub>3</sub> mejoraron la germinación, siendo FLU + AG<sub>3</sub> la óptima, ésta fue capaz de elevar la germinación de 34% en el testigo a 96% a los 60 días. Lo anterior sugiere que en los mecanismos de dormancia de la semilla de *U. molinae* está involucrada la presencia de ABA.

Tupaz et al. (2019) evaluaron metodologías de rescate de embriones en diferentes genotipos y 22 cultivares de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en materiales de mejoramiento genético difíciles de germinar para la obtención de una planta a partir de la germinación de embriones provenientes de diferentes genotipos y cultivares de palma de aceite *Elaeis guineensis* Jacq. Tipo Pisífera x Pisífera, Oleífera x Oleífera, Oleífera x Guineensis, evaluando así, cinco diferentes tratamientos de medio de cultivo que favorecieran la rápida y eficaz germinación del embrión y seleccionando dos de éstos que dieran respuesta exitosa. Al cabo de 15 días de siembra, el mayor porcentaje de germinación se dio en los tratamientos 4 y 5 que contenían (MS + Vitaminas + Carbón activado + Agar) y (MS + Sacarosa + GelRite) respectivamente.

Ávila y Luna (2019) por medio de la técnica rescate de embriones implementaron la adición del ácido giberélico en progenies de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) tipo Pisífera (PxP)

para el rompimiento de dormancia en concentraciones de 100, 150, 200 y 250 ppm de AG<sub>3</sub> y un control con tres réplicas para cada tratamiento, determinando que la dosis de 100 ppm de AG<sub>3</sub> fue la de mejor comportamiento al presentar un promedio de 49% de germinación, y mayor longitud en las estructuras de plúmula (8.2 mm) y radícula (2.2 mm).

## **4.2. Marco contextual**

La Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma), es una corporación de carácter científico y técnico, sin fines de lucro, creada en 1991 con el propósito de generar, adaptar, validar y transferir tecnología en el cultivo de la palma de aceite, su procesamiento y su consumo. Para contribuir a la solución de los diferentes problemas de la agroindustria en las regiones, la agremiación cuenta con campos experimentales en las zonas palmeras del país, donde Cenipalma desarrolla e implementa sus procesos de investigación y extensión: zona central, zona norte, zona oriental y zona suroccidental.

El Palmar de la Vizcaína se encuentra ubicado en el Km. 32 Vía la Lizama, Corregimiento Peroles, Troncal del Magdalena Medio, Barrancabermeja –Santander.

El Centro se rige por los estatutos modificados en la sesión de la IX Sala General del 4 de junio de 1999 y es el grupo de investigación 1A en palma de aceite, con el reconocimiento de Colciencias como centro de investigación, otorgado mediante la Resolución 859/11.

## **4.3. Marco teórico**

### **4.3.1. Importancia**

El cultivo de palma de aceite, a nivel mundial es la oleaginosa más productiva, una hectárea sembrada produce entre 6 y 10 veces más aceites que las demás. Colombia es el cuarto productor mundial de aceite de palma (después de Indonesia, Malasia y Tailandia) y el primero de

América, alcanzando en 2017 un rendimiento de 3,8 toneladas de aceite por hectárea (Fedepalma, 2018)

Es así como el área sembrada en palma de aceite pasó de 5 mil hectáreas en 1962, año en que se funda a 103 mil hectáreas a finales de los años 80, y supera hoy día las 500 mil hectáreas. La producción de aceite de palma pasó de 15 mil toneladas a inicios de los años 60, a 232 mil toneladas en 1989 y a más de 1.6 millones de toneladas en 2017, con un valor de la producción que bordea los \$ 3.3 billones en la actualidad (Fedepalma, 2018).

El cultivo de palma, cobija 152 municipios de 21 departamentos, conformando 139 alianzas productivas estratégicas palmeras de más de 6000 productores.

“El cultivo de la palma de aceite se destaca por ser más productivo utilizando menor área sembrada con respecto a las otras oleaginosas” (Gonzales, 2016).

#### **4.3.2. Historia y desarrollo**

Tiene sus orígenes en el silo XV en las costas del golfo de Guinea, de ahí su nombre científico *Elaeis guineensis* Jacq, (palma africana). A mediados del siglo XIX la palma de aceite, en África y Europa se empezó a comercializar como materia prima para la producción de velas, y de lubricantes para ferrocarriles. Entre 1.961 y 1.977 Malasia sembró más de 700 mil hectáreas y pasó a ser el principal exportador del mundo en el año 1.966. En Colombia en el año de 1.932 el Señor Florentino Claes trajo las primeras Palmas africanas con fines ornamentales para algunos pueblos y lugares específicos de la Región Amazónica y en la Estación Agrícola de Palmira, en el Valle del Cauca. La empresa multinacional “United Fruit Company”, se interesó en la siembra, producción y comercialización en el año 1945, empezando por Honduras en la zona bananera del Departamento del Magdalena. El incremento de este cultivo ha dependido

fundamentalmente del impulso de los respectivos gobiernos por medio de proyectos y de las facilidades de los inversionistas (Mujica, 2010).

#### **4.3.3. La palma de aceite en Colombia**

En el año 1958 el Instituto de Fomento Algodonero (IFA) inició un proyecto de diversificación de cultivos con la Palma africana (Mujica, 2010). En 1962 se crea la federación nacional de cultivadores de palma de aceite (Fedepalma), conformada por pequeños, medianos y grandes cultivadores de palma de aceite. Fedepalma brinda oportunidades de interacción gremial, información económica y comercial actualizada, gestión ambiental y social, promoción de proyectos de valor agregado, y fomento de la asistencia técnica para sus afiliados, entre otros.

Colombia cuenta con 733 hectáreas sembradas repartidas en cuatro zonas del país. Zona norte: Antioquia, Atlántico, Bolívar, Cesar, Sucre, choco, Córdoba, La Guajira y Magdalena; Zona central: Antioquia, Bolívar, Caldas, Cesar, Cundinamarca, Santander y Norte de Santander; Zona suroccidental: Caquetá, Cauca, Nariño; Zona oriental: Arauca, Casanare, Cundinamarca, Meta, y Vichada. El cultivo de palma, cobija 152 municipios de 21 departamentos, conformando 139 alianzas productivas estratégicas palmeras de más de 6000 productores (Fedepalma, 2019).

#### **4.3.4. Tipos de frutos de la palma de aceite**

El fruto de la palma de aceite es una drupa, la cual se produce en grandes cantidades dentro de racimos compactos y contiene dos aceites vegetales: el aceite de palma (del mesocarpio) saturado aproximadamente en 50 % y compuesto principalmente de ácido palmítico (C16:0) y ácido oleico (C18:1), y el aceite de palmiste, saturado en más de 80 % y compuesto principalmente de ácido láurico (C12:0) (Billotte et al., 2016).

Encontramos tres tipos de frutos, dependiendo del grosor del cuesco, el cual es controlado por el gen principal codominante llamado *Sh*, dura con cuesco grueso, pisífera sin cuesco y ténera proveniente del cruce entre dura y pisífera con cuesco delgado (Rajanaidu, 1995).

#### **4.3.5. Mejoramiento genético en palma de aceite**

El inicio del mejoramiento genético en Colombia se dio a partir del año 1948 por Patiño, el realizo los primeros cruzamientos en 1946, en el año 1947, se sembraron las primeras progenies en la Estación Agroforestal del Pacífico, en el Bajo Calima, a partir del proceso de selección, se logró desarrollar los materiales de Ténera y Pisífera en el Centro Regional de Investigaciones (CRI) "El Mira" de ICA, en Tumaco. Actualmente se ha adoptado el método de selección recurrente modificada, o el de selección recurrente recíproca (Martínez, Ochoa y Bastidas, 1999).

#### **4.3.6. Cultivo de Tejidos**

La técnica de cultivo de tejidos tiene una favorable capacidad para la multiplicación de las progenies dura y pisíferas. El tiempo requerido para la obtención de plántulas mediante esta técnica es de 2 a 3 años desde el explantes hasta previvero. La producción de plántulas por este método de propagación es de cinco millones año en Malasia, aunque se espera que este número incremente (Rajanaidu, 2016).

En el laboratorio de cultivos de tejidos, del Centro de Investigación de Palma de aceite, (Cenipalma), se estableció la técnica de embriogénesis somática, utilizando las hojas más jóvenes como explantes, que posteriormente producirán callo embriogénico, seguidamente la proliferación de embrioides en brotes y su correspondiente aclimatación en previvero, en un periodo de 2 a 3 años (Ávila y Romero, 2016).

#### **4.3.7. Rescate de embriones**

El rescate de embriones cigótico es una técnica de producción de plántulas in vitro viable, que permite la obtención de plantas de diferentes especies las cuales presentan dificultades para su germinación (Tabí et al., 2016).

La técnica de rescate de embriones inmaduros consiste en su aislamiento y crecimiento in vitro, en condiciones estériles, con el fin de obtener una planta viable. Las posibilidades de éxito en cultivo y regeneración en el laboratorio dependen de varios factores, entre los cuales resulta clave el estado de desarrollo del embrión en el momento de ser aislado (Gómez, Reyes, Martínez, Escobedo y García, 2010).

#### **4.3.8. Giberelinas**

Las giberelinas son hormonas que son sintetizadas en muchas partes de la planta, pero principalmente en áreas de crecimiento activo como los embriones o tejidos meristemáticos (Gonzales, Caycedo, Velásquez, Flores y Garzón, 2007).

El GA<sub>3</sub> induce la síntesis de  $\alpha$ -amilasa, que es la enzima que toma parte en la desintegración de las reservas de almidón durante la germinación de las semillas. Debido a esta función, es bien conocido su uso como promotor o inductor de la germinación en diversos tipos de plantas (Mandujano, Golubov y Rojas, 2007).

#### **4.3.9. Prueba de viabilidad**

La viabilidad denota el potencial que tiene una semilla para germinar, la cual está ligada al éxito o fracaso reproductivo de las poblaciones y de esta manera es una de las primeras variables a evaluar cuando se trabaja con semillas. La prueba de viabilidad nos revela unos aspectos esenciales para conocer la calidad del lote e identificar factores que pueden afectar a las semillas tales como la dormancia (Mancipe, Calderón y Pérez, 2018).

La prueba de tetrazolio puede ser utilizada sin importar el grado de dormición de las semillas, consiste en colocar las semillas cortadas longitudinalmente con el embrión expuesto, sobre una solución incolora de 2,5-5-cloruro de trifeniltetrazolio 0,05% a 1%, si las células están vivas el compuesto se reduce tornándose rojizas, producto de la acción deshidrogenasa de la semilla, que se evidencia tanto en el embrión como en el endospermo.

#### **4.4. Marco legal**

##### **4.4.1. Palmicultor.**

DECRETO 1730 de 1994- Por el cual se reglamenta la Ley 138 del 9 de junio de 1994, "por la cual se establece la cuota para el fomento de la Agroindustria de la Palma de Aceite y se crea el Fondo del Fomento Palmero".

##### **4.4.2. Protección de las variedades vegetales.**

LEY 243 de 1995 - Por la cual se aprueba el Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, UPOV del 2 de diciembre de 1961, revisado en Ginebra el 10 de noviembre de 1972 y el 23 de octubre de 1978.

LEY 61 de 1985 - Por la cual se adopta la palma de cera (*Ceroxylom quindiuense*) como árbol nacional.

DECRETO 533 de 1994 - Por el cual se reglamenta el Régimen Común de Derechos de los Obtentores de Variedades Vegetales.

RESOLUCION 1155 de 2002 ICA - Por la cual se actualizan las tarifas para los servicios de producción de semillas para siembras y registros de obtentores de variedades vegetales.

RESOLUCION 720 de 2001 ICA - DEROGADO - Por la cual se actualizan las tarifas para los servicios de Producción de Semillas para Siembras y Registro de Obtentores de Variedades Vegetales.

#### **4.4.3. Régimen sanitario ambiental.**

LEY 99 de 1993 - Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA y se dictan otras disposiciones; Arts. 31 Núm. 17; 32; 69; 83 a 86.

DECRETO 1375 de 2013 - Por el cual se reglamentan las colecciones biológicas.

RESOLUCION 2749 de 2017 MADS - (Conjunta - MCIT) - Por la cual se prohíbe la importación de las sustancias agotadoras de la capa de ozono listadas en los Grupos II y III del Anexo C del Protocolo de Montreal, se establecen medidas para controlar las importaciones de las sustancias agotadoras de la capa de ozono listadas en el Grupo I del Anexo C del Protocolo de Montreal y se adoptan otras disposiciones.

#### **4.4.4. Ciencia y tecnología**

DECRETO 978 de 2018 - Por el cual se reglamentan las condiciones de asignación y funcionamiento de los programas de becas creados por las instituciones de educación superior, aprobados por el Ministerio de Educación Nacional, y financiados con las donaciones a que se refieren los artículos 158-1 y 256 del Estatuto Tributario "por el cual se expide el Estatuto Tributario de los Impuestos Administrados por la Dirección General de Impuestos Nacionales" y se adiciona el Decreto 1075 de 2015, Único Reglamentario del Sector Educación.

## 5. Metodología

### 5.1. Diseño metodológico

El presente estudio tiene un enfoque cuantitativo y es de tipo experimental, donde se estudió la alteración de una variable experimental o varias al mismo tiempo, en un ambiente estrictamente vigilado, con el fin de ver los cambios en la variable dependiente en este ambiente controlado por el investigador.

#### 5.1.1. Población

El programa de mejoramiento de Cenipalma, cuenta con unas colecciones o accesiones biológicas de la especie *Elaeis guineensis* Jacq. con diferentes tipos de fruto. Específicamente se utilizarán palmas de tipo Pisífera, cuya característica principal es la ausencia de exocarpo (cuesco) y únicamente presentan almendra dentro de su fruto.

#### 5.1.2. Muestra

Las muestras del presente proyecto de investigación se obtuvieron de embriones desnudos provenientes de almendras de racimos procedentes de autofecundaciones de palmas tipo Pisífera (Pisífera x Pisífera) que fueron cortados en su etapa de maduración fisiológica; entre 130 -150 días después de la polinización asistida.

#### 5.1.3. Diseño experimental

El experimento se estableció bajo un diseño irrestrictamente al azar, (DIA) con arreglo factorial, donde el (factor A) son los genotipos y el (factor B) son las dosis de giberelinas, para un total de 12 tratamientos (2x6), con 3 repeticiones y para cada repetición 15 unidades experimentales en cada tratamiento.

**Factor A.** Genotipos evaluados

Cruzamiento Pisifera x Pisifera (PxP).

Cruzamiento Dura x Pisifera (DxP).

**Factor B.** Concentraciones de la Giberelina. AG<sub>3</sub>

0 ppm

20 ppm

40 ppm

60 ppm

80 ppm

100 ppm

#### 5.1.4. Procesamiento y análisis de los datos.

Cada semana se estableció 1 repetición, para un total de 4 semanas en el montaje de todo el experimento. Las variables dependientes que fueron evaluadas correspondieron al porcentaje de germinación, longitud de plúmula y longitud de radícula de cada embrión germinado. Para el análisis estadístico se utilizó el software Minitab.19.

En la tabla 1 a continuación se muestra la descripción de cada uno de los tratamientos evaluados en el experimento.

#### 5.1.5. Introducciones

*Tabla 1.* Introducción de embriones por experimento

<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis AG<sub>3</sub> ppm</b>	<b>Repetición 1</b>	<b>Repetición 2</b>	<b>Repetición 3</b>
1-PxP	0	15	15	15
2-PxP	20	15	15	15
3-PxP	40	15	15	15
4-PxP	60	15	15	15
5-PxP	80	15	15	15
6-PxP	100	15	15	15

7-DxP	0	15	15	15
8-DxP	20	15	15	15
9-DxP	40	15	15	15
10-DxP	60	15	15	15
11-DxP	80	15	15	15
12-DxP	100	15	15	15

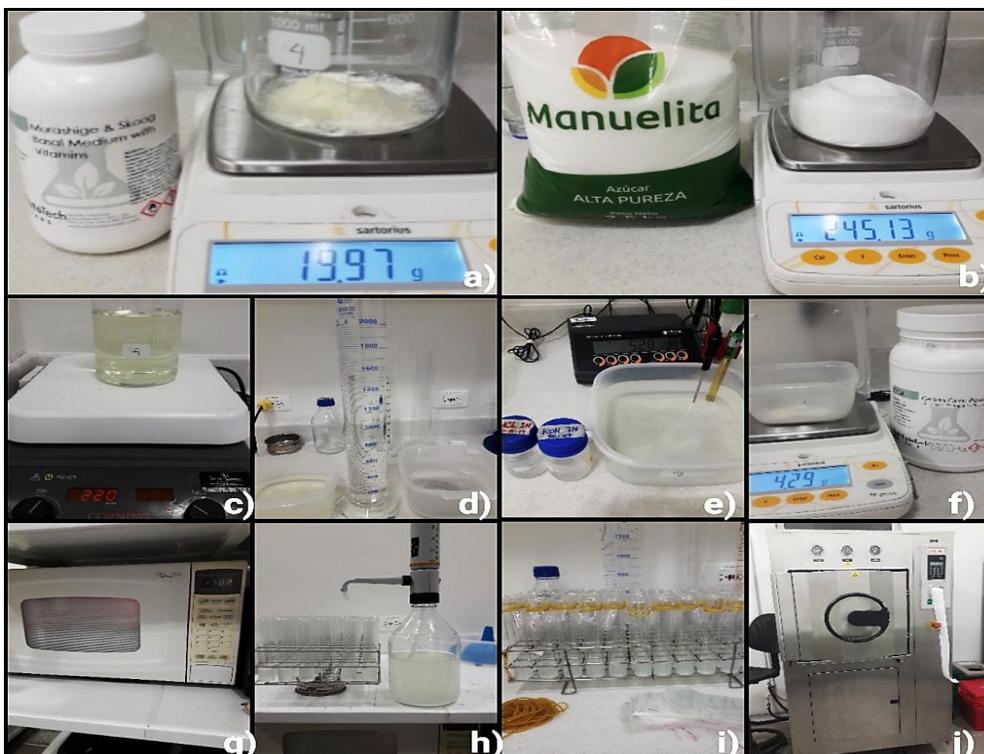
---

Fuente: Elaboración propia.

## **5.2. Descripción de actividades**

### **5.2.1. Preparación del medio de cultivo.**

Para la preparación de los tratamientos se utilizó el medio de cultivo basal MS, (Murashige & Skoog, 1962) en una dosis estándar de 4,43 gr/L, más la adición de sacarosa 50 gr/L, se disolvieron en agua destilada obteniendo la solución madre. Se distribuyó en los tratamientos, posteriormente se adicionaron las seis diferentes concentraciones de la hormona AG<sub>3</sub> (0, 20, 40, 60, 80, y 100 ppm). Se aforó con agua destilada, seguidamente se midió el pH ajustándolo a 5.70 y se agregó el gelificante GelRite 3,8 gr/L, para posteriormente proceder la cocción en microondas, 1 minuto por 100 ml, seguidamente se sirvió en tubos cada uno con 15 ml del medio, se sellaron con bolsas de polipropileno y ligas para finalmente autoclavar a 121°C por 15 minutos (Figura 1).



*Figura 1.* Preparación medio de cultivo. a) MS; b) Sacarosa; c) Solución madre; d) Adición de hormona; e) Calibración peachimetro; d) gelificante; g) cocción; h) distribución en los tubos; i) sellado; j) autoclavado.  
Fuente: elaboración propia.

### 5.2.2. Desinfección de almendras.

Se realizaron cortes de frutos para extraer las almendras. En una cabina de flujo laminar, se procedió a realizar la desinfección pasando por una serie de lavados para ser desinfectadas. Primeramente, se realizaron dos lavados con hipoclorito al 1% con 10 gotas de Tween20 por litro preparado cada uno de 10 minutos, esto para evitar aparición de bacterias y hongos en la introducción. Se retiró esta solución con dos enjuagues de agua destilada y estéril cada uno de 10 minutos, dejándolas posteriormente en una solución fungicida durante 16 horas.

Transcurridas las 16 horas se realizaron tres enjuagues con agua destilada y estéril por 5 minutos cada uno, para finalmente dejarlas sumergidas en Glucosa hidratando así el tejido y reactivarlas mientras se procedía a la extracción del embrión (Figura 2).



*Figura 2.* Extracción y desinfección; a) genotipo Pisífera; b) genotipo Ténera.

Fuente: elaboración propia.

### **5.2.3. Prueba de viabilidad.**

Antes de realizar la desinfección de los embriones, se seleccionaron 5 embriones para llevar a cabo la prueba de viabilidad, la cual, permite garantizar el uso de embriones viables. Se colocaron en una caja Petri con una servilleta humedecida con agua destilada estéril para hidratarlos, sellando la caja con vinipel. Posteriormente se llevaron al horno durante 15 horas a 35°C. Terminadas las 15 horas de incubación, se les agregó una concentración de sal de tetrazolio al 0,075% dejándolos nuevamente en el horno, a 40°C durante 4 horas (Figura 3).

De esta manera se determina la viabilidad, evaluando el número de embriones teñidos por tetrazolio sobre el número de embriones totales sembrados.

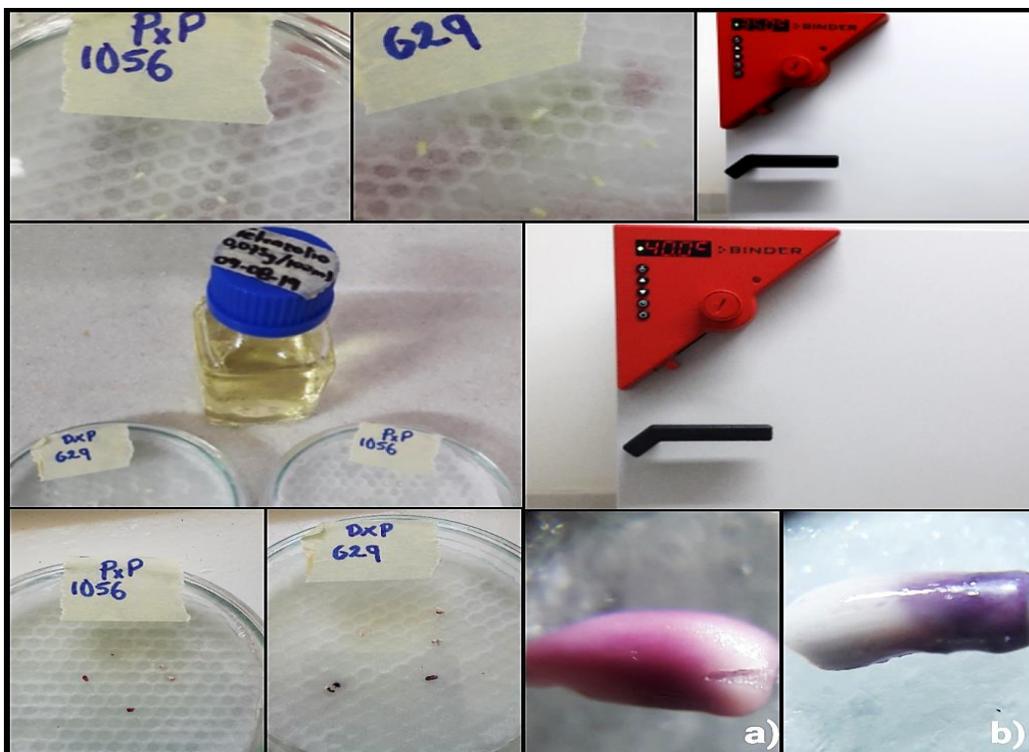


Figura 3. Prueba de viabilidad; a) genotipo pisífera; b) genotipo ténera.  
Fuente: elaboración propia.

#### 5.2.4. Extracción e introducción de embriones.

Se realizaron cortes de 45° a las almendras para poder obtener el embrión, el cual se colocó en agua destilada estéril con el fin de que se mantuviera hidratado. El embrión después de ser extraído de la almendra, se desinfecto haciéndole dos lavados con hipoclorito al 1% durante 1 minuto cada uno y seguido de dos enjuagues con agua destilada estéril durante un minuto cada uno para retirar la solución.

Cuidadosamente se tomó el embrión de la parte más delgada y se introdujo de manera que el haustorio (la parte más ancha del embrión) quedara en el medio con su respectivo tratamiento con AG<sub>3</sub>. Finalmente se sellaron los tubos y se dejaron en cuarto de luz de crecimiento donde se controlaron las condiciones de luz, temperatura y humedad relativa. Cada repetición se realizó con una diferencia de 8 días (Figura 4).



Figura 4. Extracción e introducción de embriones.

Fuente: elaboración propia.

### **5.3. Evaluación de la concentración adecuada de AG3 para la germinación de embriones de la progenie pisífera x pisífera**

Para la determinación de la variable de germinación, se llevaron a cabo revisiones después de 15 días de la siembra, tomando datos cada 8 días registrando en el formato de germinación (Anexo 2) observando el desarrollo de los embriones teniendo en cuenta aspectos como crecimiento, contaminación, diferenciación de plúmula y radícula.

### **5.4. Respuesta de la progenie pisífera x pisífera frente a la técnica de rescate de embriones empleando la adición de la hormona AG<sub>3</sub>.**

Las mediciones de plúmula y radícula se llevaron a cabo después de 15 días de la siembra. Las variables evaluadas fueron: estado del embrión, desarrollo de raíz, desarrollo de plúmula, coloración del embrión, contaminación y estado del medio. Las mediciones se realizaron por

medio de un muestreo no destructivo, tomando las medidas sobre el tubo con la ayuda de un pie de rey electrónico (Figura 5). Los resultados se registraron, en el formato de medición y observaciones establecidos por el laboratorio (Anexo 3).



Figura 5. Mediciones. a) Plúmula; b) radícula  
Fuente: elaboración propia

## 6. Resultados y análisis.

Los resultados obtenidos corresponden a un avance significativo del experimento, debido a que hasta el momento la repetición 1 cuenta con tres revisiones, la repetición 2 con dos revisiones y la repetición 3 cuenta con una revisión.

### 6.1. Prueba de viabilidad

El genotipo PxP-1056 presentó una coloración rojiza en la estructura de tres embriones, determinando la viabilidad para la siembra de un 60%. El genotipo DxP-629 presentó una coloración rojiza en la estructura de cuatro embriones, determinando la viabilidad para la siembra de un 80% (Figura 6).



Figura 6. a) Viabilidad PxP-1056; b) viabilidad DxP-629.  
Fuente: elaboración propia.

Mediante la aplicación de la prueba de viabilidad se evidenció el potencial germinativo que puedan tener los embriones, al reaccionar los tejidos con la solución de sal de tetrazolio formando un compuesto insoluble de color rosado que indica la viabilidad del tejido (Mancipe et al., 2018).

## 6.2. Concentración adecuada de AG<sub>3</sub> para la germinación de embriones de la progenie pisifera x pisifera.

### 6.2.1. Germinación

El comportamiento de la germinación hasta el momento muestra que el valor más alto lo presenta el tratamiento 3(PxP-40), con un porcentaje del 40%, de germinación de embriones, seguido del tratamiento 5(PxP-80), con un porcentaje del 26,7% y el tratamiento 2(PxP-20), con un porcentaje del 22,2 %. En contraste los tratamientos 7(DxP-0), 10(DxP-60), con valores de 4,4% y el tratamiento 11(DxP-80), con un valor 6,7% (Figura 7).

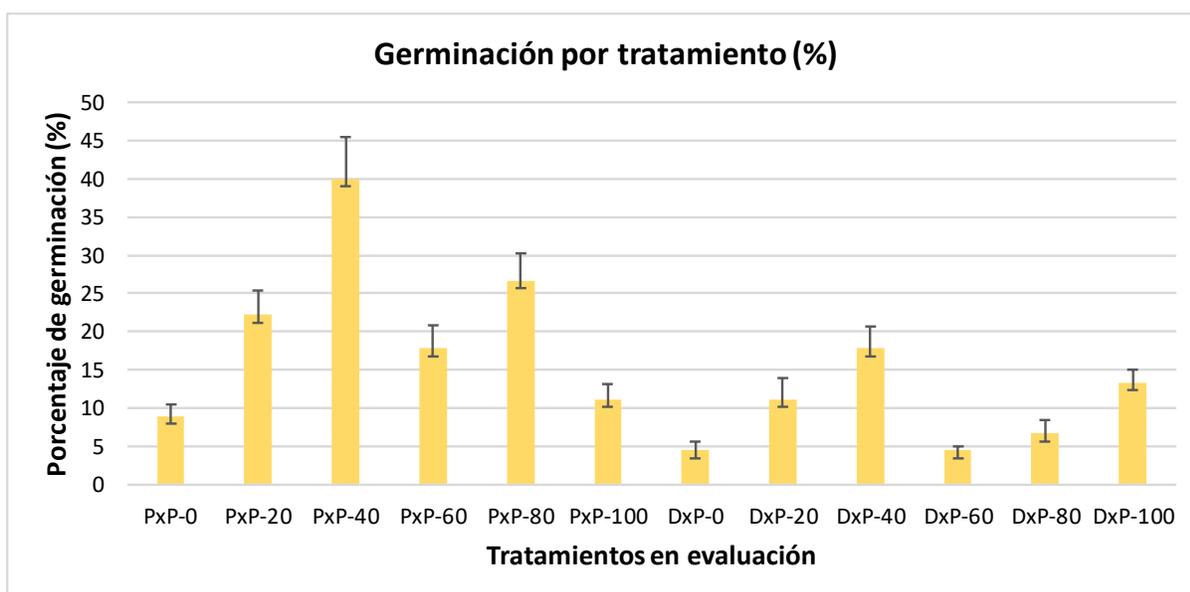


Figura 7. Germinación de los diferentes tratamientos establecidos.  
Fuente: elaboración propia.

La técnica de rescate de embriones ha sido una alternativa para la obtención de plantas a partir de la germinación de embriones de materiales de mejoramiento genético difíciles de germinar (Tupaz, 2019). La adición del ácido giberélico al medio de cultivo ha promovido una mayor y más rápida germinación de los embriones, especialmente en la dosis de 40 ppm. Luna et al. (2018) determinó que dosis superiores a 100 ppm de AG<sub>3</sub> no son recomendables para la adecuada germinación de embriones de palmas tipo pisiferas.

La tendencia en base a la germinación según las repeticiones, muestran que hasta la fecha en la réplica 1 todos los tratamientos han germinado, notándose que los valores más altos corresponden a los tratamientos 3(PxP-40) con un 46,7%, 9(DxP-40) con un 40%, por el contrario los tratamientos 1(PxP-20), 2(PxP-60), 3(PxP-80), presentan valores de 13,3% y 10(DxP-60) con 6,7% de germinación de embriones. Por otro lado, en las repeticiones dos y tres se obtuvieron siete y cinco tratamientos con evidencia de germinación, con rangos que estuvieron entre 73,3% y 0% de germinación. Cabe resaltar que la repetición uno cuenta con 4 evaluaciones, mientras que las repeticiones dos y tres solamente llevan tres y dos evaluaciones respectivamente (Figura 8).

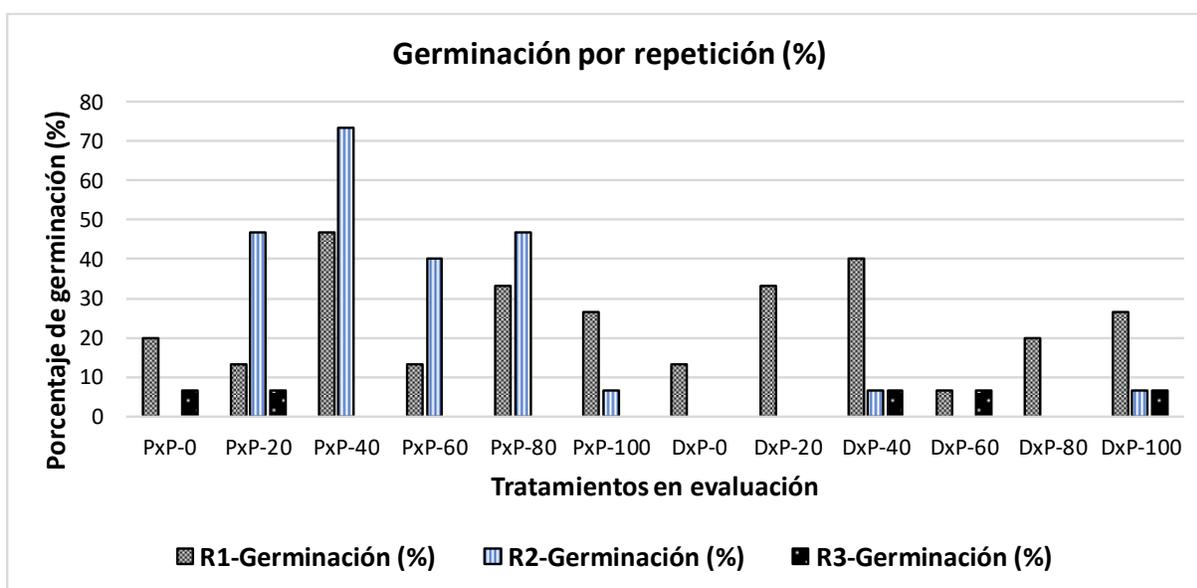


Figura 8. Germinación de los diferentes tratamientos establecidos por cada repetición  
Fuente: elaboración propia.

Rodríguez et al. (2016) atribuyen a las giberelinas ser promotoras del crecimiento y de tener un rol protagónico en la germinación siendo necesarias para romper la dormancia en las semillas. Por su parte, Araya, Gómez, Hidalgo y Valverde (2000) encontraron que el ácido giberélico a 2mg/L estimuló en un 80 % la germinación de semillas de (*Alnus acuminata*).

Se realizó un análisis de varianza para los tratamientos evaluados, y no se encontró diferencias altamente significativas ( $P > 0,533$ ) entre tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de varianza (Tratamiento).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	11	3569	324,5	0,93	0,533
Error	24	8415	350,6		
Total	35	11984			

Fuente: Elaboración propia.

La hipótesis nula indica, que los datos no siguen una distribución normal  $p < 0,05$ . Los puntos se encuentran alejados de los datos de la línea de distribución ajustada, observándose que no hay normalidad en los datos, esta tendencia se ve reflejada debido a que el total de embriones de la repetición 3 aún no ha germinado completamente por el tiempo en el cual fue introducida (Figura 9).

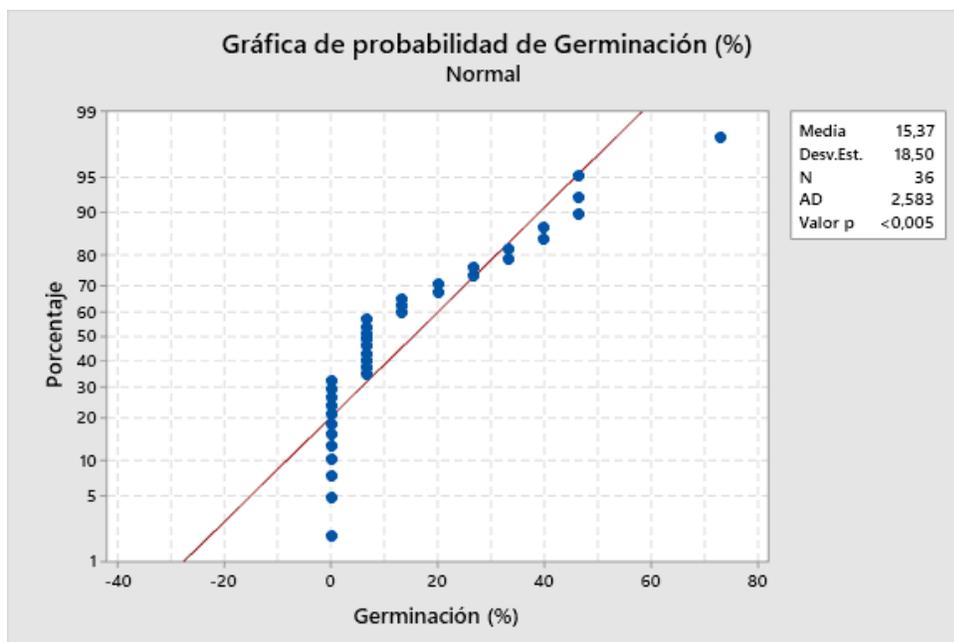


Figura 9. Probabilidad de germinación.

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 3 a continuación se muestran las estadísticas descriptivas para cada uno de los tratamientos evaluados, los valores de la media estuvieron en un rango de 40% y 4,4% de germinación. El tratamiento 3(PxP-40), presento el valor máximo de germinación con un 73.3% en comparación, con los tratamientos 1(PxP-0), 3(PxP-40), 4(PxP-60), 5(PxP-80), 6(PxP-100), 7(DxP-0), 8(DxP-20), 10(DxP-60) y 11(DxP-80), que reportan 0% de germinación hasta el momento. Teniendo en cuenta que la repetición uno cuenta con 4 evaluaciones, mientras que las repeticiones dos y tres solamente llevan tres y dos evaluaciones respectivamente (Tabla 3).

*Tabla 3.* Estadística descriptiva para la germinación.

<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>CoefVar</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
1 (PxP-0)	3	8,89	10,18	114,56	0	20
2 (PxP-20)	3	22,2	21,4	96,44	6,7	46,7
3 (PxP-40)	3	40	37,1	92,8	0	73,3
4 (PxP-60)	3	17,8	20,4	114,56	0	40
5 (PxP-80)	3	26,7	24	90,14	0	46,7
6 (PxP-100)	3	11,11	13,88	124,9	0	26,67
7 (DxP-0)	3	4,44	7,7	173,21	0	13,33
8 (DxP-20)	3	11,1	19,2	173,21	0	33,3
9 (DxP-40)	3	17,8	19,2	108,25	6,7	40
10 (DxP-60)	3	4,44	3,85	86,6	0	6,67
11 (DxP-80)	3	6,67	11,55	173,21	0	20
12 (DxP-100)	3	13,33	11,55	86,6	6,67	26,67

Fuente: Elaboración propia.

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las repeticiones establecidas, donde se encontraron diferencias altamente significativas (P 0,008) (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza por repetición

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Repetición	2	3040	1519,8	5,61	0,008
Error	33	8944	271,0		
Total	35	11984			

Fuente: Elaboración propia

Se realizó una comparación de promedios mediante la prueba de Tukey, para identificar las diferencias encontradas en el análisis de varianza (Tabla 5). Con una confianza del 95%, la prueba de Tukey mostró que la repetición 1 con 24.44% de germinación es diferente de la repetición 3 con 2.77 % de germinación de los embriones. Los resultados anteriores se deben al tiempo de evaluación entre una repetición y otra.

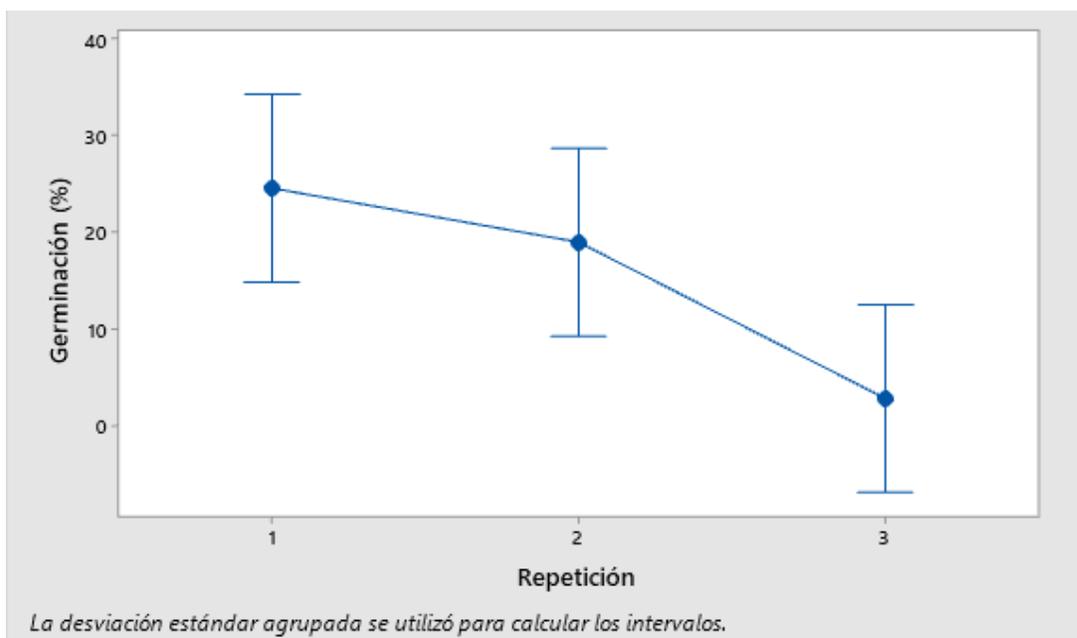
Tabla 5. Prueba de Tukey.

<b>Repetición</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
1	12	24,44	a
2	12	18,89	a b
3	12	2,778	b

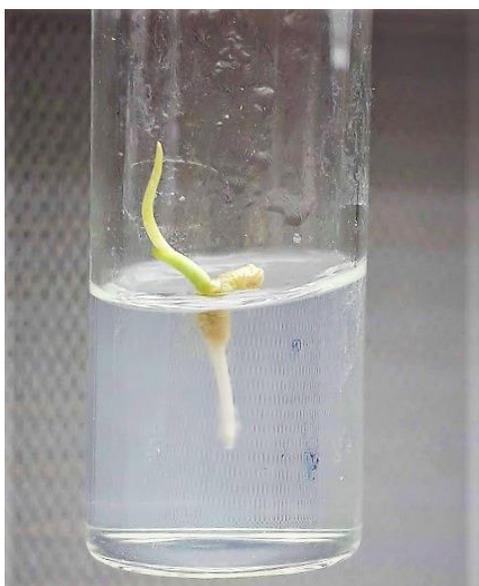
Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Fuente: Elaboración propia

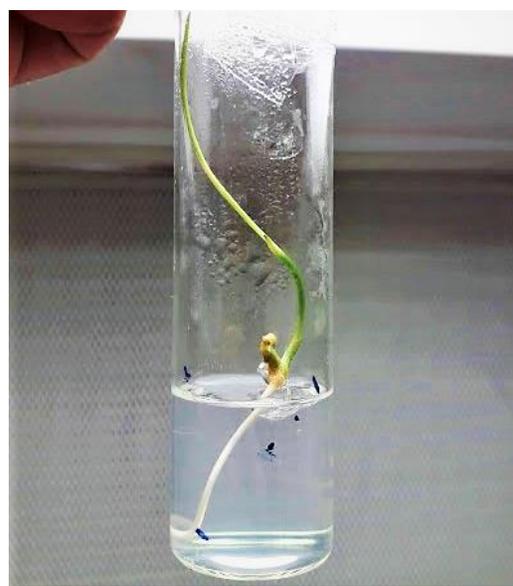
Los intervalos de la repetición 1 y 2 se sobreponen, pero no sobreponen la repetición 3. Por lo tanto, la media de la repetición 3 puede ser significativamente diferente de las medias de las otras repeticiones (Figura 10).



*Figura 10.* Intervalos de germinación vs Repetición.  
Fuente: elaboración propia.



*Figura 11.* Germinación genotipo PxP-1056. Fuente: elaboración propia.



*Figura 12.* Germinación genotipo DxP-629. Fuente: elaboración propia.

### 6.3. Respuesta de la progenie pisifera x pisifera frente a la técnica de rescate de embriones empleando la adición de la hormona AG<sub>3</sub>.

#### 6.3.1. Longitud de plúmula

En la figura (13) se muestra el comportamiento del desarrollo vegetativo, que para este caso hace referencia al crecimiento de la plúmula (parte apical de la planta) expresada en milímetros (mm), donde los tratamientos 8 (DxP-20) alcanza un valor de 70 mm de desarrollo, seguido del 9 (DxP-40) con un valor de 46.8 mm y finalmente el tratamiento 12 (DxP-100) con 27 mm de desarrollo de la plúmula. De la misma forma se evidencian valores de 0 y menos a 10 mm en los tratamientos que no alcanzan más de 3 evaluación hasta el momento.

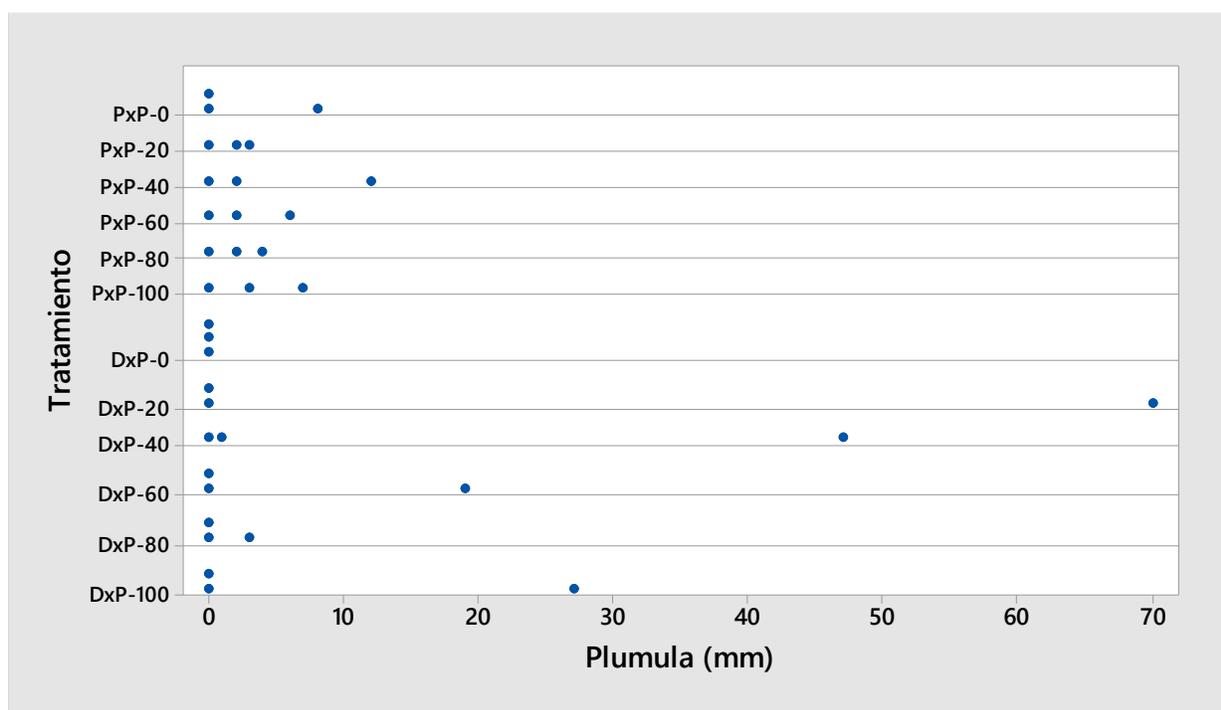


Figura 13. Longitud de plúmula (mm).

Fuente: elaboración propia.

El ácido giberélico promueve el crecimiento vegetativo del embrión durante la germinación y activa la producción de enzimas hidrolíticas especialmente  $\alpha$ -amilasa, enzima involucrada en la solubilización de las reservas del endospermo (Santacruz, Castañeda, Gaspar, Nuñez, y Mora,

2014). Una función reguladora del AG<sub>3</sub> es la inducción del crecimiento, vía alargamiento celular (Talon, 2000). Está bien argumentado que el ácido giberélico promueve la elongación de los entrenudos y la división celular; pero su efecto depende del genotipo (Araya et al., 2000).

El análisis descriptivo para cada uno de los tratamientos evaluados, evidencian que los valores de la media estuvieron en un rango de 23,3 mm y 0 mm de longitud. El tratamiento 8(DxP-20), presento el valor máximo de desarrollo con 69,8 mm en comparación, con los demás tratamientos que presentan valores mínimos de 0 mm. Es pertinente señalar, que en la repetición 2 y 3 aún no se evidencia diferenciación de plúmula, debido al tiempo del experimento (Tabla 6).

*Tabla 6.* Estadística descriptiva desarrollo de plúmula.

<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>CoefVar</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
1 (PxP-0)	3	2,7	4,68	173,21	0	8,11
2 (PxP-20)	3	1,77	1,585	89,57	0	3,06
3 (PxP-40)	3	4,71	6,31	134,08	0	11,87
4 (PxP-60)	3	2,68	3,07	114,38	0	6,03
5 (PxP-80)	3	2,24	2,21	98,62	0	4,43
6 (PxP-100)	3	3,2	3,25	101,62	0	6,51
7 (DxP-0)	3	0	0	*	0	0
8 (DxP-20)	3	23,3	40,3	173,21	0	69,8
9 (DxP-40)	3	16	26,7	167,64	0	46,8
10 (DxP-60)	3	6,37	11,03	173,21	0	19,1
11 (DxP-80)	3	0,977	1,692	173,21	0	2,93
12 (DxP-100)	3	9,14	15,83	173,21	0	27,41

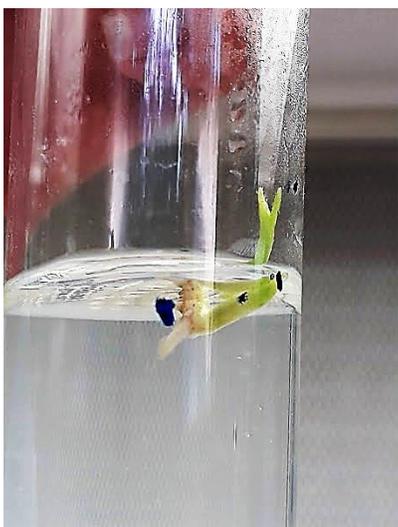
Nota: Fuente: Elaboración propia.



*Figura 14. Desarrollo plúmula semana 1. Fuente: elaboración propia.*



*Figura 15. Desarrollo plúmula semana 2. Fuente: elaboración propia.*



*Figura 16. Desarrollo plúmula semana 3. Fuente: elaboración propia.*



*Figura 17. Desarrollo plúmula semana 4. Fuente: elaboración propia.*

### **6.3.2. Longitud de radícula**

El progreso del desarrollo radicular, expresado en milímetros (mm), evidencian que los tratamientos 8 (DxP-20) alcanza un valor de 44,2 mm, seguido del 9 (DxP-40) con una longitud de 15,35 mm de desarrollo de la radícula, así mismo se evidencian valores de 0 y menos a 6 mm en los tratamientos que no alcanzan más de 3 evaluación hasta el momento (Figura 18).

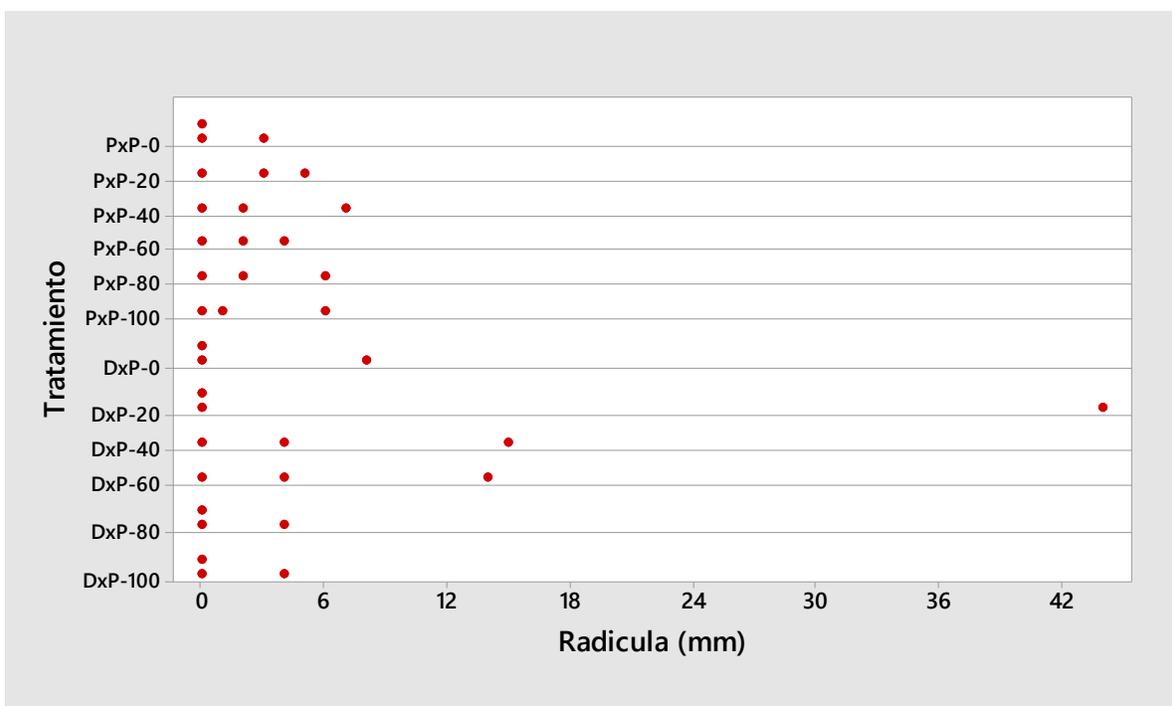


Figura 18. Longitud radícula (mm).

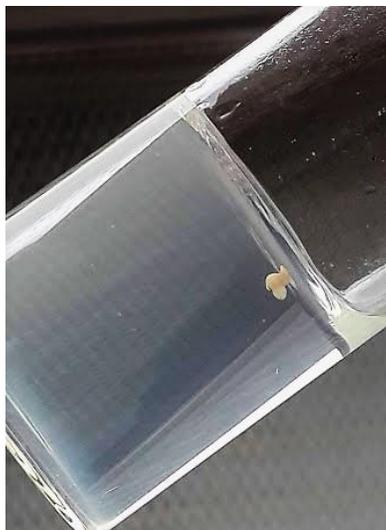
Fuente: elaboración propia.

Las estadísticas descriptivas para cada uno de los tratamientos evaluados muestran que los valores de la media estuvieron en un rango de 14,7 mm y 0 mm de longitud. El tratamiento 8(DxP-20), presentó el valor máximo de desarrollo con 44,2 mm en contraste, con los demás tratamientos que presentan valores mínimos de 0 mm de longitud. Teniendo en cuenta, que en la repetición 2 y 3 aún no se evidencia diferenciación de radícula, debido al tiempo del experimento (Tabla 7).

Tabla 7. Estadística descriptiva desarrollo de radícula.

<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>CoefVar</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
1 (PxP-0)	3	0,93	1,611	173,21	0	2,79
2 (PxP-20)	3	2,62	2,57	98,08	0	5,14
3 (PxP-40)	3	3,03	3,79	125,01	0	7,29
4 (PxP-60)	3	1,92	1,84	95,77	0	3,67
5 (PxP-80)	3	2,85	3,05	107,18	0	6,07
6 (PxP-100)	3	2,57	3,35	130,13	0	6,36
7 (DxP-0)	3	2,81	4,86	173,21	0	8,42
8 (DxP-20)	3	14,7	25,5	173,21	0	44,2
9 (DxP-40)	3	6,4	7,99	124,79	0	15,35
10 (DxP-60)	3	5,8	7,17	123,64	0	13,81
11 (DxP-80)	3	1,49	2,57	173,21	0	4,46
12 (DxP-100)	3	1,17	2,03	173,21	0	3,52

Fuente: Elaboración propia.



*Figura 19.* Desarrollo radícula semana 1. Fuente: elaboración propia.



*Figura 20.* Desarrollo radícula semana 2. Fuente: elaboración propia.



*Figura 21.* Desarrollo radícula semana 3. Fuente: elaboración propia.



*Figura 22.* Desarrollo radícula semana 4. Fuente: elaboración propia.

## 7. Conclusiones Parciales

Hasta el momento la dosis de 40 ppm de AG<sub>3</sub> correspondiente al tratamiento 3(PxP-40) demostró ser la mejor en la obtención de plantas por medio de la técnica de rescate de embriones con un porcentaje general de 40% de germinación, por otra parte, se resalta la dosis de 80 ppm de AG<sub>3</sub> correspondiente al tratamiento 5 (PxP-80), con un porcentaje general de 26,7%.

El tratamiento con la dosis 20 ppm de AG<sub>3</sub> correspondiente a 8 (DxP-20) ha evidenciado un mayor desarrollo de plúmula con una longitud de 69,8 (mm). En el genotipo pisífera las mejores dosis han sido 40 ppm de AG<sub>3</sub> en el tratamiento 3 (PxP-40) con una longitud de 11,9 (mm).

La respuesta al desarrollo de la radícula ha sido favorecida con la dosis de 20 ppm de AG<sub>3</sub> en el tratamiento correspondiente a 8 (DxP-20) con 44,2 (mm) de longitud. En el genotipo Pisífera las mejores dosis han sido 40 ppm de AG<sub>3</sub> respectivamente en el tratamiento 3 (PxP-40) con una longitud de 7,3 (mm) y 100 ppm en el tratamiento 6 (PxP-100) con una longitud de 6,5 (mm).

El ácido giberélico favoreció la germinación de las plántulas especialmente en la dosis de 40 ppm de AG<sub>3</sub> permitiendo una adecuada germinación, desarrollo radical y apical hasta el momento, tanto en el genotipo PxP-1056 como en el genotipo DxP-629.

## **8. Recomendaciones**

Establecer las repeticiones al mismo momento para que los datos sean homogéneos y el análisis sea en el mismo tiempo para las variables.

Evaluar más consecutivos tipo Pisífera, para analizar el comportamiento de los diferentes consecutivos ya que estos se obtienen por autofecundación.

## 9. Bibliografía

- Amador, K., Diaz, J., Loza, S., y Bivian E. (2013). Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). *Polibotánica*, 35, 109-131.
- Ávila, R., y Luna, P. (2019). *Determinación de la concentración del ácido giberélico para el rompimiento de dormancia en progenies de palma de aceite (Elaeis guineensis Jacq.) tipo pisífera mediante la técnica de rescate de embriones*. Tesis pregrado. Cúcuta. Colombia.
- Avila, R., y Romero, H. (2016). Evaluación del comportamiento en campo de clones de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) tipo dura en condiciones de la Zona Central colombiana. *Ceniavances*.
- Balzon, T., Gomes, Z., y Scherwinski, J. (2013). New approaches to improve the efficiency of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) from mature zygotic embryos. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 49 (1), 41-50.
- Billotte, N., Cuellar, T., Espeout-Fois, S., Rivallan, R., Ilbert, P., Droc, G., Bocs, S., y Lanaud, C. (2016). Biotecnología y selección de la palma de aceite: la Palma Dorada del futuro. *Palmas*, 37(1), 159-174.
- Cenipalma, (2019). Campo experimental palmar de la vizcaína. Recuperado de <https://n9.cl/8f4g>
- Euler, M., Krishna, V., Schwarze, S., Siregar H., y Qaim, M. (2017). Oil Palm Adoption, Household Welfare, and Nutrition Among Smallholder Farmers in Indonesia. *World Development*, 93, 219-235.
- Fedepalma, (2018). El palmicultor. Recuperado de <https://n9.cl/6tyi>.
- Fedepalma, (2019). La palma de aceite en Colombia. Recuperado de <https://n9.cl/chcj>

- Gómez, M., Reyes, H., Martínez, J., Escobedo, R., y García, H. (2010). Rescate de embriones en híbridos intergenéricos *Helianthus annuus x Tithonia rotundifolia*. *Acta Botánica mexicana*, 93, 111-119.
- Gonzales, M., Caycedo, C., Velásquez, M., Flores, V., y Garzón, M. (2007). Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* L.) var. Botrytis DC. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 54-61.
- González, A. (2016). La agroindustria de la palma de aceite en América. *Palmas*, 37(2), 215-228.
- Hartley, C. (1988). *The Oil Palm*. 3rd ed. London: *Logman*.
- Hernández, C., Salazar, Y., y Restrepo L. (2013). Rescate de embriones para la obtención de vitroplantas de vid (*Vitis vinifera* L.). *Rev., Colombiana Biotecnología*, 15(2), 193-201.
- Herrera, J., y Alvarado, A. (2012). Germinación de semillas de palma aceitera: estudios del efecto de la carga de racimos de la palma madre, la variedad y las condiciones (temperatura y oxígeno) durante el proceso de ruptura del reposo. *Oil palm papers*, 37, 25-30.
- Mancipe, C., Calderon, M., Perez, L. (2018). Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Caldasia*, 40(2), 366-382.
- Mandujano, M., Golubov, J., y Rojas M. (2007). Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del Desierto Chihuahuense. *Universidad Nacional Autónoma de México*, 52 (2), 46-52.
- Martínez, R., Ochoa, I., y Bastidas, S. (1999). El mejoramiento de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Colombia. Metodología estadística. *Palmas*, 20 (2), 9-21.
- Matilla, A. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. *ResearchGate*, 27-29.

- Medeiros, M., Oliveira, M., Willadino, L., y Santos, M. (2015). Overcoming seed dormancy using gibberellic acid and the performance of young *Syagrus coronata* plants under severe drought stress and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, 97, 278-286.
- Mehalaine, S., Menasria, T., Bouguessa, S., y Yahia, A. (2017). In vitro seed germination of some Algerian medicinal plants and the effect of Gibberellic acid (AG<sub>3</sub>) on breaking dormancy. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8 (6), 2034-2039.
- Mujica, C. (2010). Evolución del sector palmicultor. *Universidad de Investigación y desarrollo*.
- Plata, A., Rey, L., y Ayala, I. (2006). Avances en el rescate de embriones en palma de aceite: una herramienta eficiente en material genético de difícil germinación. *Ceniavances*, 5.
- Rajanaidu, N. (1995). Semillas de calidad - Material de propagación de palma de aceite de calidad. *Palmas*, 16 (2), 33-36.
- Rajanaidu, N. (2016). Una mirada al mejoramiento genético de la palma de aceite en los últimos cincuenta años: una aventura personal. *Palmas* 37 (1), 190-202.
- Rocha, P. (2007). Cultivo de tejidos: una herramienta valiosa para el desarrollo de la palma de aceite en Colombia. *Palmas*, 28 (1), 52-65.
- Rodriguez, M., Hormazabal, N., Araneda, X., Tampe, J., Lobos, V., y Castillos, C. (2016). Efectos del ácido giberélico, bencilaminopurina y fluridona en la germinación in vitro de *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae). *Gayana Bot*, 7(1), 77-84.
- Santacruz, F., Castañeda, J., Gaspar, A., Núñez, N., y Mora, S. (2014). Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación in vitro de (*Cordia elaeagnoides*) A. DC. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 5(25), 84-97.
- Tabi Mbi, K., Tonfack, L., Ntsomboh Ntsefong, G., Mir, B., Ngando Ebongue, G., Ngaha, D., Njembele, C., Namuene, K., y Youmbi, E. (2016). Mature zygotic embryo rescue

- improves in vitro germination and seedling production in high value oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 94, 445-453. doi: doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.002
- Tabi, K., Ngando, G., Ntsomboh, G., y Youmbi E. (2017). Effect of dry heat treatment along with some dormancy breaking chemicals on oil palm seed germination. *South African Journal of Botany*, 112, 489-493.
- Tabi, K., Tonfack, L., Ntsomboh, G., Bilal, A., Ngando, G., Ngaha, D., Njembele, C., Kato, S., y Youmbi, E. (2016). Mature zygotic embryo rescue improves in vitro germination and seedling production in high value oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 94, 445-453.
- Tupaz, A., Avila, R., Ortega, A., Ayala, I., y Romero, H. (2019). Evaluación de metodologías para el rescate y crioconservación de embriones de frutos de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) Tipo pisífera. Tesis pregrado. Cúcuta. Colombia
- Tupaz, A., Ayala, I., y Romero, H. (2019). Clasificación de palmas tipo pisifera por su producción, llenado del racimo y fertilidad del fruto como parentales promisorios en programas de mejoramiento genético de palma de aceite. *Ceniavances*.
- Tzec-Sima, A., Orellana, R., y Robert, M. (2006). In vitro rescue of isolated embryos of *Bactris major* Jacq. and *Desmoncus orthacanthos* Mart., potentially useful native palms from the Yucatan Peninsula (Mexico). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 42, (1), 54-58.
- Vasquez, W., Pupiales, P., Viteri, P., Sotomayor, A., Feican, C., Campaña, D., y Viera, W. (2019). Escarificación química y aplicación de ácido giberélico para la germinación de semillas de cultivares de mora (*Rubus glaucus* benth). *Interciencia*, 44(3).

Walck, J., Hidayati, S., Dixon, K., Thompson, J y Poschlod, P. (2011). Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*, 17(6), 2145–2161.



