



1859



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Agronomía

Efecto de varias dosis de giberelinas en la germinación de diferentes ecotipos de chirimoya en Loja

Trabajo de Integración
Curricular previo a la obtención
del título de Ingeniera Agrónoma

AUTORA:

Danny Icel Góngora Cordero

DIRECTOR:

Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2024

Certificación

Loja, 19 de noviembre de 2024

Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Efecto de varias dosis de giberelinas en la germinación de diferentes ecotipos de chirimoya en Loja**, previo a la obtención del título de **Ingeniera Agrónoma**, de la autoría de la estudiante Danny Icel Góngora Cordero, con cédula de identidad **Nro. 0706444452**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectivasustentación y defensa.



Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Danny Icel Góngora Cordero**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de este. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mí del Trabajo de Integración Curricular en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



Firma:

Cédula de identidad: 0706444452

Fecha: 20 de noviembre de 2024

Correo electrónico: danny.gongora@unl.edu.ec

Teléfono: 0994818782

Carta de autorización por parte de la autora para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica de texto completo, del Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Danny Icel Góngora Cordero** declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Efecto de varias dosis de giberelinas en la germinación de diferentes ecotipos de chirimoya en Loja**, como requisito para optar el título de **Ingeniera Agrónoma**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, suscribo, en la ciudad de Loja, a los veinte días del mes de noviembre de dos mil veinticuatro.

Firma:



Autora: Danny Icel Góngora Cordero

Cédula: 0706444452

Dirección: Ángel Felicísimo Rojas y avenida Reinaldo Espinoza

Correo electrónico: danny.gongora@unl.edu.ec

Celular: 0994818782

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo Integración Curricular: Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

Dedicatoria

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, sin embargo me permitieron ir a vivir en otra ciudad sola y me motivaron constantemente para alcanzar mis sueños y metas.

Gracias mamá y papá.

Danny Icel Góngora Cordero

Agradecimiento

En primer lugar a Dios y mi familia que jamás dejaron de alentarme y no me permitieron rendirme a lo largo del camino. A mis mentores y mi querida Universidad Nacional de Loja que durante cinco años me permitieron nutrirme de conocimiento guiándome por el camino correcto y a mis amigos más cercanos incluyendo algunos compañeros de carrera que me enseñaron una amistad verdadera, ayudándome cada día a mejorar y también aceptarme como ser humano lleno de aciertos y errores.

Danny Icel Góngora Cordero

Índice de Contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de anexos.....	x
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco teórico	7
4.1. Generalidades de la chirimoya	7
4.2. Taxonomía.....	7
4.3. Morfología.....	7
4.4. Distribución.....	8
4.5. Variabilidad de ecotipos de chirimoya.....	9
4.6. Propagación en chirimoya.....	9
4.7. Germinación de semillas en chirimoya	10
4.8. Tratamiento pre-germinativo.....	10
4.9. Papel de las giberelinas (GA) en la germinación de semillas	11
4.10. Regulación hormonal en la germinación de semillas	11
4.11. Estudios previos sobre el uso de giberelinas en germinación de chirimoya	12
5. Metodología	12
5.1. Ubicación geográfica.....	13
5.2. Metodología general.....	13
5.3. Diseño experimental.....	14
5.4. Metodología para el primer objetivo “Cuantificar la germinación en diferentes dosis de	

giberelinas y el efecto sobre los distintos ecotipos de chirimoya”	14
5.4.1. Porcentaje de emergencia	15
5.5. Metodología para el segundo objetivo “Evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya”	15
5.5.1. Altura de la planta.....	15
5.5.2. Diámetro del tallo	15
5.5.3. Número de hojas	15
5.6. Análisis estadístico.....	15
6. Resultados	16
6.1. Resultados para el primer objetivo “Cuantificar la germinación en diferentes dosis de giberelinas y el efecto sobre los distintos ecotipos de chirimoya”	17
6.1.1. Porcentaje de emergencia	17
6.2. Resultados para el segundo objetivo “Evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya”	19
6.2.1. Altura	19
6.2.2. Diámetro	20
6.2.3. Número de hojas	21
7. Discusión	22
7.1. Primer objetivo: Cuantificar la germinación.....	22
7.2. Segundo objetivo: Evaluar el crecimiento inicial	23
8. Conclusiones	24
9. Recomendaciones	25
10. Bibliografía	26
11. Anexos	29

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica de la zona donde se desarrolló el ensayo.	13
Figura 2. Diseño experimental del ensayo.....	14
Figura 3. Curvas de emergencia de las semillas de chirimoya.	17
Figura 4. Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya.	18
Figura 5. Altura de las plantas de chirimoya.	19
Figura 6. Diámetro del tallo de las plantas de chirimoya.	20
Figura 7. Número de hojas en la planta de chirimoya.	21

Índice de anexos

Anexo 1. Secado de semilla.....	29
Anexo 2. Separación de semilla por tipo de exocarpo.....	29
Anexo 3. Escarificación de semilla	30
Anexo 4. Desinfección de semillas.....	30
Anexo 5. Separación de semillas para aplicar tratamiento	31
Anexo 6. Colocación de tratamiento	31
Anexo 7. Semillas con los distintos tratamientos	32
Anexo 8. Desinfección de sustrato y llenado de fundas	32
Anexo 9. Ubicación del ensayo y colocación de etiquetas	33
Anexo 10. Certificación por traducción del apartado resumen al idioma inglés.....	34
Anexo 11. Aval del profesional encargado de la traducción del apartado resumen al idioma inglés	35

1. Título

**Efecto de varias dosis de giberelinas en la germinación de diferentes ecotipos de chirimoya
en Loja**

2. Resumen

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) es un fruto muy apreciado por sus propiedades nutricionales, digestivas y medicinales, con alta demanda tanto en mercados nacionales como internacionales. Sin embargo, la propagación de esta especie se ve dificultada por la baja y lenta tasa de germinación de sus semillas, debido a la latencia. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de distintas concentraciones de giberelinas en la germinación de diferentes ecotipos de chirimoya (lisa, impressa y mamillata) en Loja, Ecuador. Se recolectaron semillas de cada ecotipo, las cuales fueron sometidas a escarificación mecánica y tratadas con ácido giberélico en concentraciones de 0 ppm, 3500 ppm, 5000 ppm y 6500 ppm. Posteriormente, se evaluó el porcentaje de germinación y el crecimiento inicial de las plantas (altura, diámetro del tallo y número de hojas). Los resultados mostraron que las semillas del ecotipo mamillata tratadas con 3500 ppm y 6500 ppm de giberelinas alcanzaron los mayores porcentajes de germinación, con un 63% hacia el final del ensayo (día 123). No obstante, no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento inicial de las plantas, independientemente de la concentración de giberelinas aplicada o el ecotipo estudiado. Este estudio sugiere que las giberelinas pueden mejorar significativamente la germinación de las semillas de chirimoya en ciertos ecotipos, especialmente en el caso de mamillata, pero su impacto en el desarrollo temprano de las plantas es limitado. Estos resultados aportan información valiosa para futuros programas de propagación y mejoramiento de la chirimoya, enfocándose en estrategias para superar la latencia de las semillas y optimizar las técnicas de cultivo en las primeras etapas de desarrollo.

Palabras clave: *Annona cherimola* Mill.; Germinación; Latencia; Pre-germinativos

Abstract

The *cherimoya* (*Annona cherimola* Mill.) is a fruit highly valued for its nutritional, digestive, and medicinal properties, with high demand in both domestic and international markets. However, the propagation of this species is hindered by the low and slow germination rate of its seeds due to dormancy. The aim of this study was to determine the effect of different concentrations of gibberellins on the germination of different cherimoya ecotypes (*lisa*, *impressa*, and *mamillata*) in Loja, Ecuador. Seeds from each ecotype were collected, subjected to mechanical scarification, and treated with gibberellic acid at concentrations of 0 ppm, 3500 ppm, 5000 ppm, and 6500 ppm. Germination percentage and initial plant growth (height, stem diameter, and number of leaves) were then evaluated. The results showed that *mamillata* ecotype seeds treated with 3500 ppm and 6500 ppm of gibberellins achieved the highest germination percentages, reaching 63% by the end of the trial (day 123). However, no significant differences were found in the initial growth of the plants, regardless of the gibberellin concentration applied or the ecotype studied. This study suggests that gibberellins can significantly improve the germination of cherimoya seeds in certain ecotypes, particularly in the case of *mamillata*, but their impact on early plant development is limited. These results provide valuable information for future cherimoya propagation and breeding programs, focusing on strategies to overcome seed dormancy and optimize cultivation techniques in the early stages of development.

Key words: *Annona cherimola* Mill, Germination, Latency, Pre-germinative

3. Introducción

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) presenta características organolépticas, digestivas y nutritivas altamente valoradas, adicionalmente es altamente apreciada por sus propiedades medicinales e industriales tanto en el mercado nacional como internacional (González, 2013).

González (2013) expone que los frutos de chirimoya aún son desconocidos en cuanto a sus características y potencialidades como planta cultivada, por tanto, es factible encaminar acciones que conlleven al fomento de este importante cultivo, donde las condiciones así lo permitan. La germinación de chirimoya es de suma importancia para la propagación.

Uno de los principales problemas en las semillas de las anonáceas es la germinación, su porcentaje es muy bajo y tarda mucho en emerger, se vuelve difícil este proceso debido a que presentan latencia, germinando de manera no uniforme González (2013). (Lobo Arias & Medina Cano (2001) mencionan que las semillas de chirimoya presentan latencia morfológica y morfosiológica, dadas estas condiciones varios investigadores han probado estratificaciones a diferentes niveles de temperaturas, humedad, luz y hasta el uso de compuestos químicos como nitratos, cloruro de sodio y ácido giberélico, así mismo, se han utilizado procesos de escarificación química y/o mecánica, entre otros para superar la latencia de las semillas.

Coria Téllez & Obledo Vázquez (2014) realizaron un estudio en el cual buscan disminuir el tiempo de germinación de las semillas de guanábana, realizando para ello en primer lugar una escarificación mecánica y la aplicación de cloruro de sodio en combinación con ácido giberélico, dando como resultado una mejora en la velocidad de germinación. Sin embargo, en lo expuesto anteriormente las dosis de reguladores de crecimiento aplicadas no fueron las mejores, ya que actualmente sigue siendo un problema la latencia de estas semillas, además no hay estudios donde se demuestre que el ecotipo del fruto de la chirimoya tenga influencia sobre la germinación de las semillas, es decir si estas tardan más o menos dependiendo del tipo del exocarpo del fruto.

Es así como, el presente proyecto de investigación tiene como objeto determinar el efecto de las dosis de giberelinas en la germinación de distintos ecotipos de chirimoya en Loja, además de cuantificar la germinación en diferentes dosis de giberelinas y el efecto

sobre los distintos ecotipos de chirimoya, además de evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar el efecto de la aplicación de dosis de giberelinas en la germinación de distintos ecotipos de chirimoya en Loja.

Específicos

- Cuantificar la germinación en diferentes dosis de giberelinas y el efecto sobre los distintos ecotipos de chirimoya.
- Evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya.

4. Marco teórico

4.1. Generalidades de la chirimoya

La chirimoya (*Annona cherimola*) es originaria de las altiplanicies de los Andes. La chirimoya está considerada la mejor de las annonas y se cultiva en regiones subtropicales y en las tierras altas tropicales. En la mayoría de las zonas, se cultiva como árbol de traspatio o como parte de un sistema de agricultura de subsistencia en elevaciones apropiadas. En Chile, España y Nueva Zelanda se cultiva la chirimoya porque tolera mejor el frío y se autopoliniza mejor que la atemoya.

4.2. Taxonomía

Popenoe (1921) establece la siguiente clasificación taxonómica para este frutal:

Dominio: Eucariota

Reino: Plantae

Filo: Espermatofita

Subfilo: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Orden: Magnoliales

Familia: Anonacea

Género: *Annona*

Especie: *Annona cherimola*

4.3. Morfología

Datiles & Acevedo-Rodríguez (2014) mencionan que, las chirimoyas son árboles erectos, de 3-10 m de altura, a menudo poco ramificados y algo arbustivos o extendidos. Las hojas, brevemente caducas a semicaducas (justo antes de la floración primaveral), son ovadas a ovado-lanceoladas, a veces obovadas o elípticas, de 12-20 cm x 8 cm, persistentemente marrón aterciopelado-tomentosas por debajo. Son alternas, de 2 filas, con pecíolos minuciosamente vellosos, ligeramente vellosos en el haz, aterciopelados en el envés. Las flores son fragantes, extra-axilares, a menudo opuestas a una hoja en la base de una rama, normalmente solitarias pero a veces dos o tres agrupadas en pedúnculos cortos tomentosos; los tres tépalos exteriores son oblongo-lineares, de hasta 3 cm de largo, de color verdoso a amarillo pálido, marcados

con una mancha púrpura en la base interior; tres tépalos interiores muy pequeños, rojizos a violáceos; androceo formado por numerosos estambres carnosos libres, dispuestos en espiral en la parte basal de un receptáculo cónico; gineceo formado por numerosos pistilos libres en la parte superior del receptáculo. El fruto es un sincarpo o pseudocarpo formado por la fusión de los carpelos y el receptáculo en una masa carnosa, de forma y aspecto variables, desde acorazonada con protuberancias en la superficie hasta esferoide u ovoide con la superficie cubierta de aréolas en forma de “U” o más bien lisa, de 10-20 cm de largo y hasta 10 cm de ancho, con un peso medio de 150-500 g, pero se han descrito especímenes extragrandes de 2,7 kg o más; pulpa blanca, comestible, fácilmente separable de las semillas. La piel puede ser lisa, con marcas parecidas a huellas dactilares, o estar cubierta de protuberancias cónicas o redondeadas. El fruto se rompe o se corta fácilmente, dejando al descubierto la pulpa blanca como la nieve, jugosa, de agradable aroma y delicioso sabor subácido. Contiene numerosas semillas duras, marrones o negras, parecidas a judías y brillantes, de 1,25-2 cm de longitud. El fruto se compone de un exocarpio (piel del fruto), que ocupa entre el 15 y el 25% en peso, un mesocarpio comestible (pulpa y tálamo), que varía entre el 65 y el 80%, y semillas, que oscilan entre el 3 y el 10%. Las semillas suelen ser obovadas, oblicuamente truncadas, algo comprimidas, con una testa fina, membranosa, marrón y arrugada.

4.4.Distribución

Se considera que la chirimoya es originaria de América del Sur Acevedo-Rodríguez & Strong (2012) y quizás era nativa de Ecuador, pero ahora se encuentra ampliamente en América Central y del Sur y es un cultivo común en ambas regiones. La provincia de Loja, y Vilcabamba en particular (sur de Ecuador), es considerada por algunos autores como su centro de origen. Esta zona se caracteriza por valles interandinos templados y secos. Mesoamérica (México) se considera un segundo centro de origen. Actualmente también es común en las Antillas y el Caribe y se cultiva en todo el mundo, incluyendo Perú, Chile, Ecuador, Bolivia, México, España, EE. UU. (California) y Nueva Zelanda. España es el productor más importante del mundo, con unas 3300 ha (en 1999) concentradas en los valles de Almuñécar y Motril (sur de España, Andalucía). El cultivo también se ha introducido en Sudáfrica, Australia,

Brasil, Venezuela y otros países latinoamericanos con fines de crecimiento comercial (Shaista & Amrita, 2016).

4.5.Variabilidad de ecotipos de chirimoya

Datiles & Acevedo-Rodríguez (2014) exponen que, desde el principio del cultivo, los agricultores y, más tarde, los investigadores iniciaron un proceso constante de selección de los mejores frutos. La combinación de esta selección y el hecho de que la mayoría de las plantaciones comerciales de chirimoyo se basan en árboles injertados dio lugar al establecimiento de cultivares con propiedades más o menos fijas. Desde principios del siglo XX se han descrito muchos cultivares. Como la selección de los mejores cultivares, basada en la calidad de la fruta, el rendimiento, la resistencia a las plagas, el momento de la cosecha y la robustez, sigue su curso, algunas variedades desarrolladas tempranamente ya no se cultivan, mientras que otras ganan importancia. Algunos de los cultivares más cultivados son 'Fino de Jete', que ocupa el 95% de la superficie española de chirimoya; 'Bays', 'Booth', 'White' y 'Pierce' en EE. UU. y Australia; 'Reretai' y 'Bronceada' en Nueva Zelanda; 'Bronceada' y 'Concha Lisa' en Chile; y 'Cumbe' en Perú. Es así como, a escala internacional, se reconocen cinco formas botánicas típicas sobre la base de las areolas de la piel del fruto:

- Forma “laevis” (lisa): piel del fruto lisa, areolas difíciles de distinguir;
- Forma “impresa” (huella): las areolas son depresiones en forma de U;
- Forma “umbonata”: pequeñas puntas en el ápice de cada areola;
- Forma “tuberculata”: grandes puntas afiladas en el ápice de cada areola;
- Forma “mamillata”: las areolas forman grandes protuberancias romas.

4.6.Propagación en chirimoya

Colauto et al. (2003) afirma que generalmente la familia Annonaceae se propaga mediante la vía sexual y con menor frecuencia también se utiliza la vía asexual (injertos y esquejes), utilizando un portainjerto o, patrón obtenido de las semillas González (2013) asegura que naturalmente esta familia produce una cantidad moderada de semillas viables, sin embargo, el índice de germinación es bajo.

En este mismo sentido Noriega (2010) asegura que, en condiciones naturales, la chirimoya se dispersa fácilmente por propagación generativa. Esta especie se

propaga generalmente por semillas, razón por la cual existe una amplia diversidad genética en las plantaciones y variación en la calidad y forma de los frutos.

4.7. Germinación de semillas en chirimoya

Las semillas de chirimoya tienen una germinación desigual de semillas, misma que también demora mucho tiempo, dificultando así la propagación generativa. Esto probablemente este asociado con la latencia, que es una característica natural que da a las plántulas una mayor probabilidad de supervivencia, al inducir la germinación en condiciones ambientales apropiadas y lejos de la planta madre para evitar competencia (Bewley & Black, 2014).

Otra característica particular de la semilla de la chirimoya es la presencia de un embrión rudimentario de lento desarrollo que en su mayoría aún no está completamente diferenciado cuando los frutos están maduros. El desarrollo del embrión continúa en la semilla después de la cosecha del fruto, impidiendo la germinación antes de la diferenciación completa del embrión (Hayat, 1963).

La germinación de las semillas de chirimoya también depende de la temperatura, tardando de tres a cuatro semanas a temperaturas entre 28 y 32 °C, y de tres a seis meses a temperaturas más bajas (< 20 °C) (George & Nissen, 1987; Richardson & Anderson, 1993; Sanewski, 1991). La conservación de las semillas de chirimoya es otro punto de desacuerdo. Sanewski (1991) y Purohit (1995) afirmaron que el poder germinativo disminuye muy rápidamente tras la cosecha, recomendando un uso inmediato de las semillas. Popenoe (1974) afirmó que las semillas de chirimoya se pueden conservar durante mucho tiempo (34 años) en un ambiente seco. Ellis & Hong (1985) describieron las semillas de chirimoya como ortodoxas, implicando que adecuadamente. Las semillas secas se pueden almacenar durante mucho tiempo en un ambiente seco y frío.

4.8. Tratamiento pre-germinativo

El tratamiento pre germinativo se refiere a estimular la germinación de semillas latentes por falta de gestación de ellas, señalando que los métodos más empleados para resolver latencias son: escarificación mecánica, escarificación química. Entre los procesos para superar la latencia en las semillas están los siguientes: aplicación de

sustancias, como el ácido giberélico (GA3), que estimulan la germinación y el desarrollo inicial de las plántulas; remojos prolongados en solución ácida de las especies frutales, entre otros.

Se han realizado algunos estudios sobre la aplicación de GA 3 en especies de Annonaceae, como *Annona crassiflora*. Estos estudios tuvieron como objetivo verificar la influencia de GA 3 en la superación de la latencia y el proceso de germinación de semillas. Los resultados demostraron que la aplicación de GA 3 exógeno aumenta el porcentaje y la velocidad de emergencia, así como la biomasa seca de las plántulas. También demostraron que la eficiencia de GA 3 está relacionada con altas concentraciones y tiempos más largos de remojo de semillas (Coutinho et al., 2018).

4.9. Papel de las giberelinas (GA) en la germinación de semillas

Saldívar-Iglesias et al. (2010) expone que las giberelinas juegan un papel crucial en la germinación de las semillas, especialmente al activar procesos que permiten la ruptura de la dormancia. Estas hormonas vegetales estimulan la producción de enzimas hidrolíticas, como la α -amilasa, que degrada el almidón almacenado en las semillas para liberarlo en forma de glucosa, que sirve como fuente de energía para la plántula en desarrollo. Durante la imbibición, que es la absorción de agua por la semilla, las giberelinas, producidas principalmente en el embrión, envían señales para desencadenar la germinación. También contrarrestan la acción del ácido abscísico (ABA), una hormona que mantiene las semillas en dormancia. Conforme disminuyen los niveles de ABA y aumentan los de giberelinas, la semilla comienza a germinar, promoviendo la elongación celular y la expansión de la radícula (la raíz embrionaria). Además de su papel en la germinación, las giberelinas también están involucradas en el crecimiento de los tallos, la inducción de la floración y el desarrollo de los frutos, lo que subraya su importancia en varias etapas del ciclo de vida de las plantas.

4.10. Regulación hormonal en la germinación de semillas

La regulación hormonal en la germinación de semillas está principalmente controlada por dos fitohormonas clave: el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GA). Estas hormonas tienen efectos antagónicos: mientras que el ABA mantiene la dormancia de las semillas y previene la germinación, las GA promueven la germinación

al estimular el crecimiento del embrión y la ruptura del tegumento de la semilla. Durante la germinación, un equilibrio delicado entre ABA y GA determina si la semilla germina o no. En condiciones favorables, los niveles de GA aumentan, activando genes que promueven el crecimiento. Por otro lado, el ABA juega un papel importante en la respuesta a condiciones de estrés abiótico, lo que puede inhibir la germinación para asegurar la supervivencia de la planta en condiciones adversas (Gong et al., 2022; Vishal & Kumar, 2018).

Además de ABA y GA, otras hormonas como auxinas y etileno también participan en la regulación de la germinación, principalmente modulando las vías de ABA y GA (Zhao et al., 2024). Estas interacciones hormonales, junto con factores ambientales como la luz y la temperatura, son fundamentales para la correcta germinación y posterior desarrollo de la plántula.

4.11. Estudios previos sobre el uso de giberelinas en germinación de chirimoya

Oliveira et al. (2010) cuyo objetivo fue evaluar los efectos del ácido giberélico (GA3), el etefón y la interacción de ambos fitorreguladores sobre el proceso de germinación de semillas de atemoya del cultivar 'Gefner' (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). Donde, obtuvieron que, existe una interacción entre la acción de los reguladores vegetales estudiados en el proceso de germinación de las semillas de atemoya, lo que permite concluir que el porcentaje de germinación de las semillas de atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) cv 'Gefner' se incrementa con el uso de 778 mg L⁻¹ de GA3, mientras que la asociación entre altas concentraciones de GA3 y 75 a 100 mg L⁻¹ de ethephon aumenta el índice de velocidad de germinación y el porcentaje de plántulas normales.

Martínez M. et al. (2016) en su estudio buscaron establecer la respuesta del porcentaje de germinación (PG), índice de sincronía (E), tiempo medio de germinación (TMG) y tasa media de germinación (TMG) de semillas de *Annona squamosa* L. Donde obtuvieron que los resultados evidenciaron una respuesta positiva a la aplicación de GA, lo que proporcionó una herramienta para la caracterización del fenómeno de latencia en las semillas de *A. squamosa*.

5. Metodología

5.1.Ubicación geográfica

El presente trabajo se desarrolló en el Vivero de Propagación Vegetal de la Quinta de La Argelia, Universidad Nacional de Loja cuyas coordenadas son 4°02'00.6"S, 79°12'01.5"O (Figura 1).

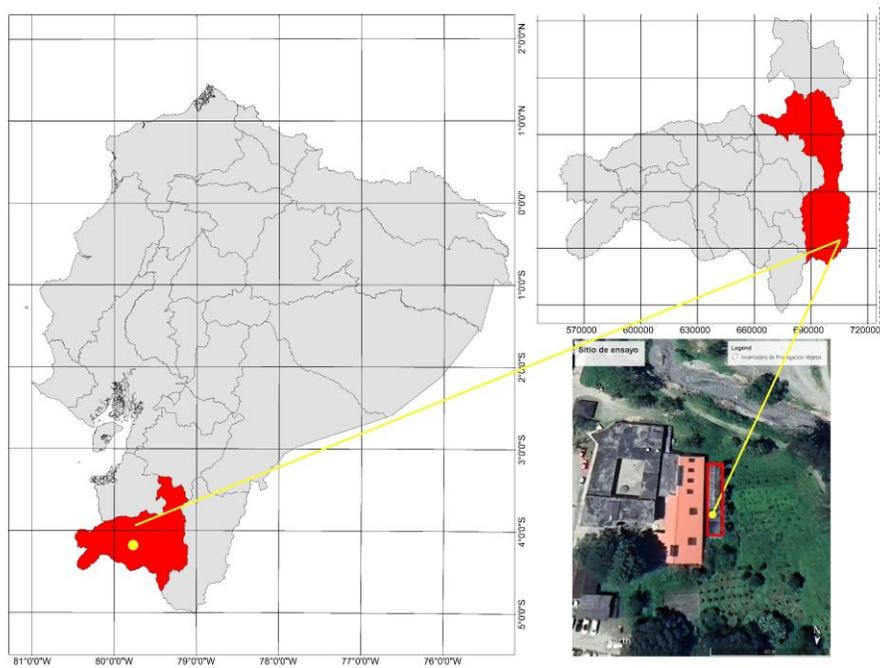


Figura 1. Ubicación geográfica de la zona donde se desarrolló el ensayo.

5.2.Metodología general

El presente proyecto de investigación es de tipo descriptivo, ya que se analizaron las variables estudiadas, y explicativo, porque se busca dar un a justificación a los resultados obtenidos. Además, es cuantitativo, dado que se trabajó con variables numéricas y experimentales empleando un diseño experimental para su desarrollo. El mismo se desarrolló bajo el siguiente protocolo inicial:

- Para la realización del ensayo se recolectaron frutos de chirimoya provenientes de la parroquia Yangana, cantón Loja considerando que estos sean de los tipos de exocarpo lisa, impresa y mamillata según los descriptores para chirimoyo de Biodiversity International & CHERLA (2008). De los frutos colectados se extrajeron las semillas, haciendo un total de 600 por cada tipo de exocarpo.
- Se aplicó escarificación del tipo mecánica utilizando gravilla, esta consistió en

frotar las semillas contra la gravilla durante aproximadamente 15 minutos. Posteriormente, se sometió el total de semillas por ecotipo a cuatro tratamientos en base a ácido giberélico en concentración de 0 ppm, 3500 ppm, 5000 ppm y 6500 ppm, durante 12 horas. Una vez finalizado este proceso, las semillas se retiraron del ácido y fueron sembradas en fundas previamente desinfectadas con Captan en presentación comercial “Captain”. La profundidad de siembra fue de acuerdo con el equivalente del doble del diámetro de la semilla. La frecuencia de riego fue diaria.

5.3. Diseño experimental

El diseño experimental (Figura 2) es completamente al azar (DCA) bifactorial, con 12 tratamientos y 15 repeticiones, sumando un total de 180 unidades experimentales. Cada repetición consta de 10 bolsas, cada una con una semilla, lo que da un total de 1800 semillas.

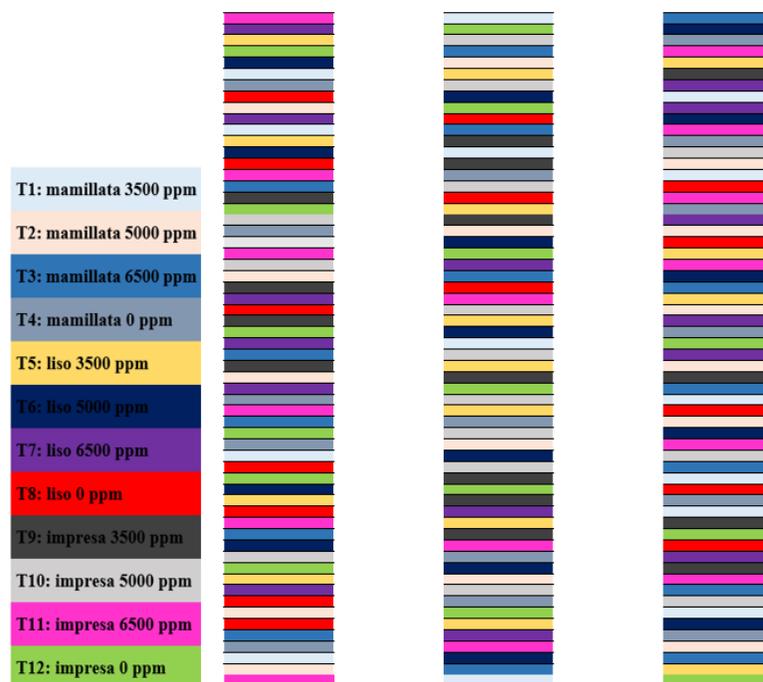


Figura 2. Diseño experimental del ensayo.

5.4. Metodología para el primer objetivo “Cuantificar la germinación en diferentes dosis de giberelinas y el efecto sobre los distintos ecotipos de chirimoya”

Tras la siembra de las semillas y siguiendo los procedimientos previamente descritos, se monitoreó el inicio de la germinación. Se realizó la cuantificación de cada

tratamiento y sus respectivas repeticiones. Los datos se registraron para todas las semillas, empleando un muestreo aleatorio. Para este resultado se evaluó la siguiente variable:

5.4.1. Porcentaje de emergencia

Para la evaluación de esta variable, se consideró como semilla germinada aquella que emergió a la superficie del sustrato. Los datos obtenidos fueron tabulados en Excel, aplicándose la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de emergencia} = \frac{\text{Número de semillas emergidas}}{\text{Total de semillas sembradas}} \times 100$$

5.5. Metodología para el segundo objetivo “Evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya”

Para la consecución de este objetivo, se seleccionaron de forma aleatoria tres plantas de cada tratamiento y repetición. Las variables evaluadas fueron:

5.5.1. Altura de la planta

Se registraron datos cada 15 días, utilizando un calibrador digital marca Total. La medición se realizó desde la base del tallo hasta la parte superior de las hojas o ramas.

5.5.2. Diámetro del tallo

Se empleó un calibrador digital, con el cual se abrió el instrumento y se posicionó de manera perpendicular al tallo, sujetando el tornillo y ajustando el vástago para obtener el diámetro del tallo. Las mediciones se realizaron cada 15 días.

5.5.3. Número de hojas

Se efectuó el conteo de las hojas en cada planta, considerando únicamente las hojas verdaderas. Los datos se tomaron cada 15 días.

5.6. Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de comparaciones múltiples mediante el test de Tukey, utilizando

el software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2011).

6. Resultados

6.1. Resultados para el primer objetivo “Cuantificar la germinación en diferentes dosis de giberelinas y el efecto sobre los distintos ecotipos de chirimoya”

6.1.1. Porcentaje de emergencia

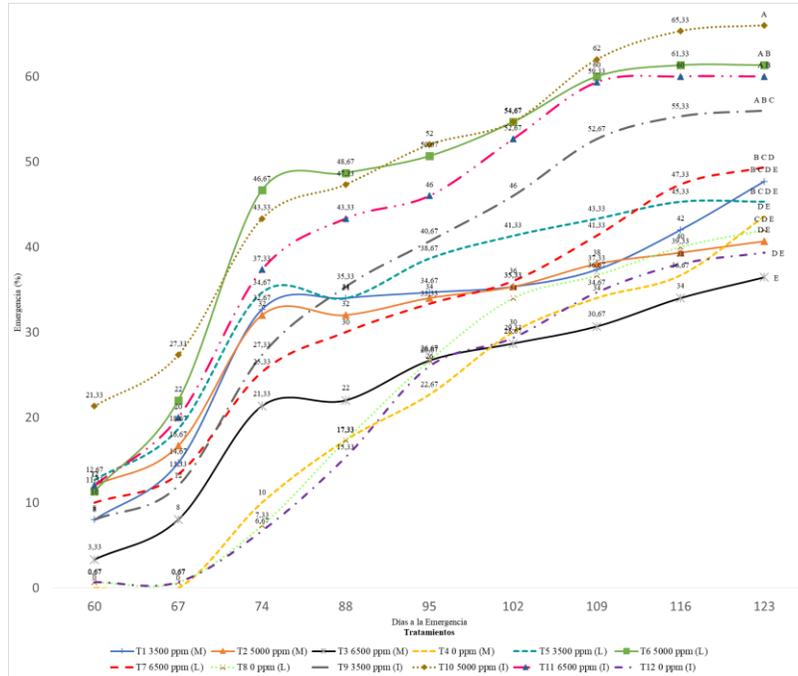


Figura 3. Curvas de emergencia de las semillas de chirimoya.

La figura 3 indica que T1 (3500 ppm) y T3 (6500 ppm) ambos de la condición (M) alcanzan los valores más altos de emergencia (63%) hacia el final del ensayo (día 123). Estos dos tratamientos están estadísticamente en el mismo grupo (A). T2 (5000 ppm - M) y T6 (5000 ppm - L) muestran también buenas tasas de emergencia (52%-55%), pero están en un grupo estadístico inferior (A, B, C) en comparación con T1 y T3. T11 (6500 ppm - L) y T12 (0 ppm - L) tienen las tasas más bajas de emergencia (30%-35%), clasificándose en el grupo estadístico más bajo (D, E). La respuesta de la emergencia parece no depender linealmente de la concentración de giberelinas. Por ejemplo, el tratamiento T5 (5500 ppm - L) muestra una emergencia baja (47%) comparada con otras concentraciones de GA en las condiciones (L). (M) parece tener una tendencia a mejores tasas de emergencia en los diferentes niveles de giberelinas, mientras que los tratamientos bajo (L) muestran respuestas más bajas en términos generales.

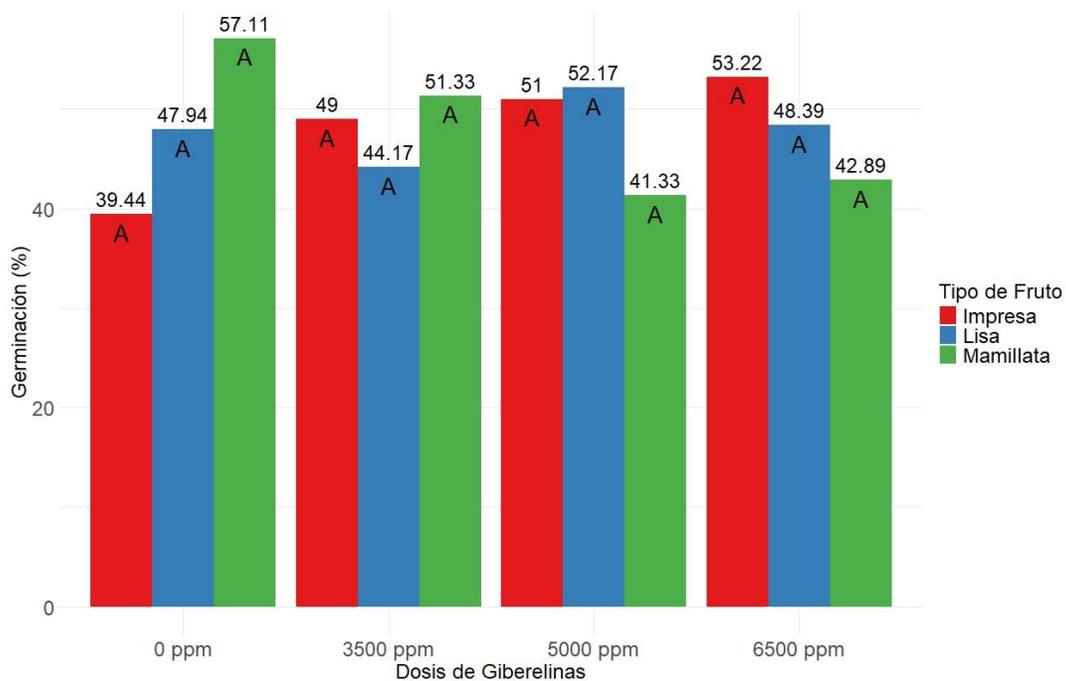


Figura 4. Porcentajes de germinación de las semillas de chirimoya.

Mediante las pruebas de comparaciones múltiples mediante el test de Tukey de la figura 4 observamos que en el fruto del tipo impresa (color rojo) la germinación varía entre un 39.44% (0 ppm) hasta un 53.22% (6500 ppm), aumentando progresivamente con la dosis de giberelinas. Para el tipo de exocarpo lisa (color azul), la germinación se mantiene relativamente constante entre 47.94% y 48.39% a medida que aumentan las dosis de giberelinas, sin mostrar un incremento notable. Respecto al tipo de exocarpo mamillata (color verde), la la germinación más alta con 3500 ppm (57.11%), pero decrece ligeramente a medida que las dosis aumentan a 6500 ppm. Las letras "A" indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos dentro de cada grupo de dosis.

6.2. Resultados para el segundo objetivo “Evaluar el crecimiento inicial de las plantas que germinaron con las distintas dosis de giberelinas y los diferentes ecotipos de chirimoya”

6.2.1. Altura

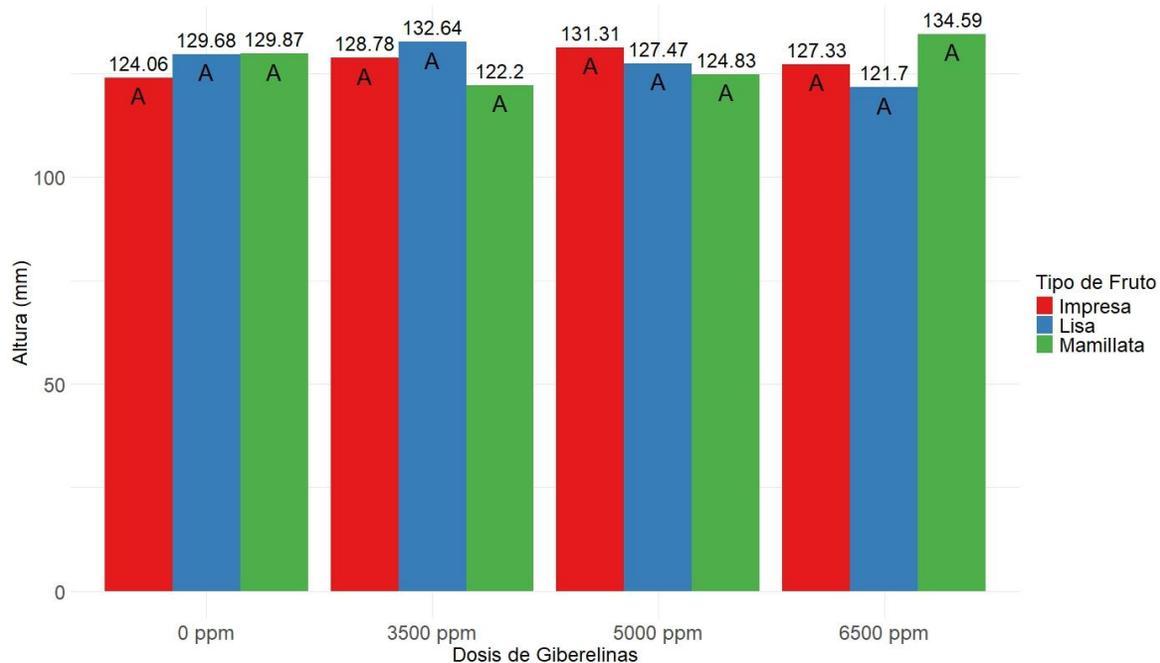


Figura 5. Altura de las plantas de chirimoya.

En la figura 5 la altura para la fruta impresa (rojo) tiene un valor inicial de 124.06 mm a 0 ppm, con un incremento hasta 131.31 mm a 5000 ppm, y finalmente una ligera disminución a 127.33 mm con 6500 ppm. En el tipo lisa (azul) los valores parten desde 129.68 mm a 0 ppm, sin cambios significativos a medida que aumenta la dosis (llega a 127.47 mm a 5000 ppm) y termina con 127.33 mm a 6500 ppm. Mientras que, para mamillata (verde) comienza con 129.87 mm a 0 ppm, alcanza su valor más alto a 134.59 mm a 6500 ppm. Las letras "A" sobre las barras indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las dosis para cada tipo de fruto.

6.2.2. Diámetro

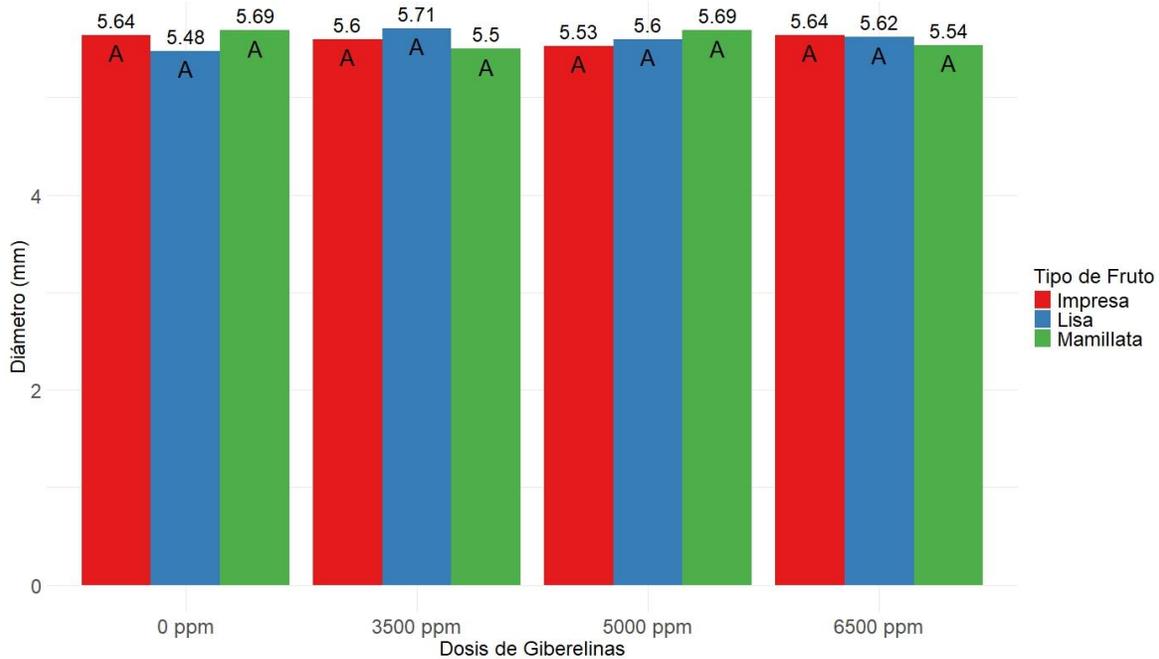


Figura 6. Diámetro del tallo de las plantas de chirimoya.

En la figura 6, para el tipo de fruto impresa (rojo) el diámetro varía ligeramente, partiendo de 5.64 mm (0 ppm) y fluctuando alrededor de 5.53 mm a 5.64 mm conforme aumentan las dosis de giberelinas. En el fruto del tipo lisa (azul), el diámetro se mantiene casi constante, iniciando en 5.48 mm (0 ppm) y alcanzando hasta 5.62 mm con 6500 ppm. Finalmente, el tipo mamillata (verde) es similar a los otros tipos de fruto, el diámetro cambia poco, comenzando en 5.69 mm (0 ppm) y terminando en 5.54 mm a 6500 ppm. Las letras "A" indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para cada tipo de fruto.

6.2.3. Número de hojas

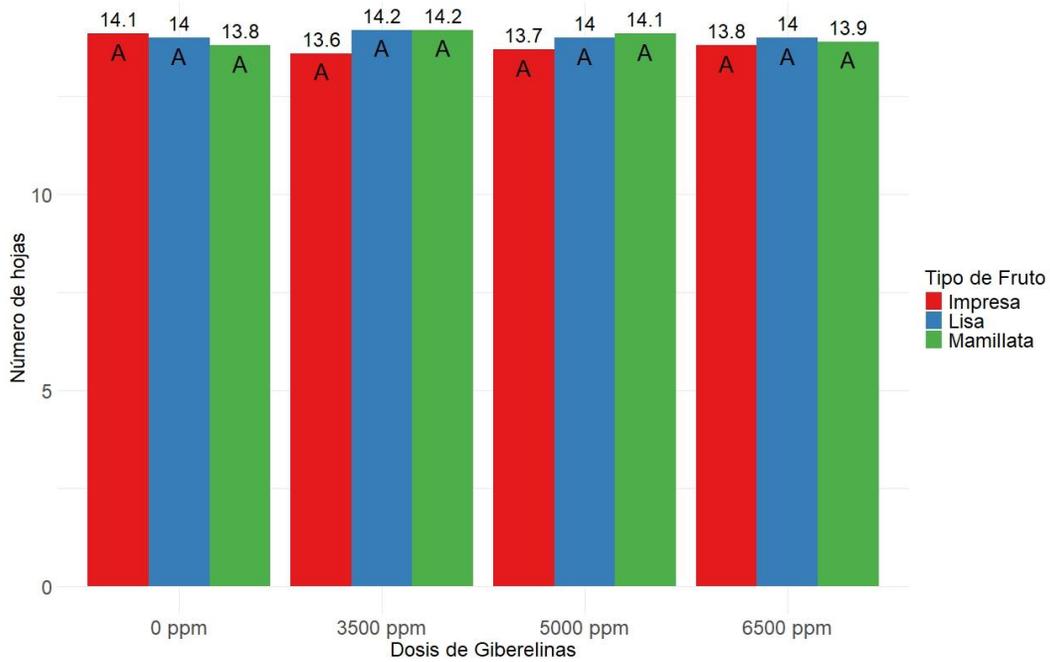


Figura 7. Número de hojas en la planta de chirimoya.

La figura 7 indica que, independientemente de la concentración de giberelinas aplicada o del tipo de exocarpo (Impresa, Lisa o Mamillata), la respuesta de la variable observada es constante y uniforme (en este caso, con un valor cercano a 14). La letra “A” en todos los tratamientos indica la ausencia de diferencias significativas refuerza que no hay un efecto relevante de estos factores sobre la variable evaluada.

7. Discusión

7.1. Primer objetivo: Cuantificar la germinación

Los datos obtenidos para la germinación no fueron cercanos a los reportes realizados por Rojas et al. (2005), donde, la aplicación de AG3 a la concentración de 3500 ppm por 24 horas, siendo el testigo el que logro el mayor porcentaje (41.4%). También se encontró que el almacenaje mejora la germinación. Adicionalmente, Baskin & 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). Castro (2007) 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.

7.2.Segundo objetivo: Evaluar el crecimiento inicial

En la altura observamos que los valores están entre 12 a 14 cm, lo cual es cercano a lo obtenido por Rojas et al. (2005) quienes reportaron un promedio de altura de las plántulas de 22 cm. Mientras que, Ceme Macías (2019) para esta variable obtuvo valores de longitud promedio de 23.96 cm muy superiores a lo obtenido en el presente ensayo y con 0 ppm de concentración.

En el diámetro se observaron valores en torno a 5 mm, los cuales coinciden con lo expuesto por Ferreira et al. (2002) que, con una concentración calculada de GA3 con máxima eficiencia técnica fue de 65,97 mg.L⁻¹ de GA3, resultando en un diámetro de tallo de 4,59 mm. Sin embargo, Abdalla et al. (1978) al igual que en este ensayo no observaron efecto significativo de la GA3 sobre el diámetro del tallo. Por otro lado, Ferguson et al. (1986) discrepan ya que encontraron un resultado positivo de GA3 sobre el diámetro del tallo.

El número de hojas en el presente ensayo fue de 14 como promedio sin diferencias significativas, de igual forma Sierra et al. (2018) obtuvieron un valor intermedio de 7.5 sin mayores diferencias significativas. Esto lo confirma (Castillo, 2021), quien alcanzó una media de 6.02 hojas y sin diferencia estadísticamente significativa para los tratamientos aplicados.

8. Conclusiones

El uso de diferentes concentraciones de giberelinas mostró un efecto claro en la emergencia de las semillas de chirimoya, pero la respuesta no fue lineal. Los tratamientos con 3500 ppm (T1) y 6500 ppm (T3) en condiciones de exocarpo mamillata alcanzaron los porcentajes de emergencia más altos, mientras que las concentraciones más bajas y la condición lisa tuvieron menores tasas de éxito. Esto sugiere que la concentración de giberelinas y el tipo de exocarpo afectan de manera distinta el proceso de emergencia.

A pesar de las variaciones en las concentraciones de giberelinas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento inicial de las plantas (altura, diámetro del tallo y número de hojas) para ninguno de los ecotipos evaluados. Esto indica que, una vez germinadas, las dosis de giberelinas no tienen un efecto relevante en el desarrollo temprano de las plantas de chirimoya.

9. Recomendaciones

Se recomienda usar concentraciones de 3500 ppm y 6500 ppm de giberelinas en condiciones de exocarpo mamillata, ya que mostraron los mejores resultados en términos de emergencia de semillas. También sería útil realizar más estudios para identificar las razones detrás de la variabilidad en la respuesta de otros tipos de exocarpo.

Dado que las giberelinas no mostraron un efecto significativo en el crecimiento inicial de las plantas, se sugiere evaluar otros factores, como las condiciones de cultivo (luz, temperatura, nutrientes), que podrían influir más directamente en el desarrollo temprano de las plantas de chirimoya.

10. Bibliografía

- Abdalla, K. M., Wakeel, A. E., & Masiry, H. E. (1978). *Effect of gibberellic acid on seed germination of some citrus rootstocks*.
- Acevedo-Rodríguez, P., & Strong, M. T. (2012). *Catalogue of seed plants of the West Indies*.
- Baskin, J., & Baskin, C. (2001). *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press.
- Bewley, J. D., & Black, M. (2014). *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: 1 development, germination, and growth*. Springer.
- Biodiversity International, & CHERLA. (2008). *Descriptores para chirimoya (Annona cherimola Mill.)*.
- Castillo, J. (2021). *Efecto de diferentes sustratos y dosis de bioestimulante fullbio en el desarrollo de plantines de chirimoya (Annona cherimola Mill.), en la comunidad de LLocahuaya municipio de Sorata*. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/27756>
- Castro, J. (2007). *Cultivo de la anona (Annona cherimola, Mill)*. Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Ceme Macías, R. W. (2019). *Anatomía y germinación de la semilla de chirimoya (Annona cherimola Miller)*. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4058>
- Colauto, N., Massanori, I., & Vieira, C. (2003). Superar la latencia de la semilla de atemoya y chirimoya. *Revista Brasileña de Fruticultura*.
- Coria Téllez, A. V., & Obledo Vázquez, E. N. (2014). Desarrollo de una metodología para incrementar el porcentaje y la velocidad de germinación de semillas de *A. muricata* L. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 2(1). <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v2i1.273>
- Coutinho, P., Villa, F., Pires, E., & Siquiera, H. (2018). Overcoming dormancy in seeds of Biribá. *Scientia Agraria Paranaensis – Sci. Agrar. Parana.*, 17(2), 226–230.
- Datiles, M. J., & Acevedo-Rodríguez, P. (2014). *Annona cherimola (cherimoya)*. *CABI Compendium, CABI Compendium*, 5806. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.5806>
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2011). *InfoStat [Programa de cómputo]*. Grupo InfoStat, FCA. <http://www.infostat.com.ar/>
- Ellis, R. H., & Hong, T. D. (1985). Handbook of Seed Technology for Genebanks. In *International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR): Vol. I&II* (pp. 210–667).

- Ferguson, J. J., Avigne, W. T., Allen, L. H., & Koch, K. E. (1986). *Growth of CO₂-enriched sour orange seedlings treated with gibberellins/cytokinins*.
- Ferreira, G., Erig, P. R., & Moro, E. (2002). Produção do porta-enxerto (*Annona squamosa* L.) com o uso de reguladores vegetais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24, 637–640. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452002000300015>
- Foley, M. (2001). Seed dormancy: An update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Sci.*, 49, 305–317.
- George, A. P., & Nissen, R. J. (1987). Propagation of *Annona* species: A review. *Scienti Horticulturae*, 33, 75–85.
- Gong, D., He, F., Liu, J., Zhang, C., Wang, Y., Tian, S., Sun, C., & Zhang, X. (2022). Understanding of Hormonal Regulation in Rice Seed Germination. *Life*, 12(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/life12071021>
- González, M. (2013). Chirimoya (*Annona cherimola* Miller), frutal tropical y sub-tropical de valores promisorios. *Cultivos Tropicales*, 34(3), 52–63.
- Hayat, M. A. (1963). Morphology of seed germination and seeding in *Annona squamosa*. *Botanical Gazette*, 124, 360–362.
- Lobo Arias, M., & Medina Cano, C. I. (2001). Variabilidad morfológica en el tomate pajarito (*Lycopersicon esculentum* var. *Cerasiforme*), precursor del tomate cultivado. *Revista Corpoica Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 2, 39–50.
- Martínez M., F. E., Miranda L., D., & Magnitskiy, S. (2016). Sugar apple (*Annona squamosa* L.) seed germination affected by the application of gibberellins. *Agronomía Colombiana*, 34(1). <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v33n3.53074>
- Noriega, C. (2010). *Estudio sobre diferentes especies y cultivares del género Annonas spp.* II Simposio Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical, Fruticultura.
- Oliveira, M. C. de, Ferreira, G., Guimarães, V. F., & Dias, G. B. (2010). Germinação de sementes de atemoia (*Annona Cherimola* Mill. X *A. squamosa* L.) cv “Gefner” submetidas a tratamentos com ácido Giberélico (GA3) e ethephon. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32, 544–554. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000062>
- Popenoe, W. (1921). The native home of the cherimoya. *Journal of Heredity*, 12(7), 331–336.
- Popenoe, W. (1974). The annonaceous fruits. In *Manual of tropical and subtropical fruits, excluding the banana, coconut, pineapple, citrus, olive and fig. A facsimile of the 1920*

- Edition* (pp. 161–195). Haffner Press - A Division of Macmillan Publishing Co.
- Purohit, A. (1995). *Annonaceous fruits*. In. Salunkle, D.K. & Kadam, S.S. (Eds.). *Handbook of fruit science and technology: Production, composition, storage and processing* (M. Dekker, pp. 377–385).
- Richardson, A., & Anderson, R. (1993). Propagating cherimoya. *The Orchardist of New Zealand*, 66, 41–43.
- Rojas, C., Vidal, E., Marroquin, L., & 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]. <http://www.cedaf.org.do/eventos/isth2005/memoria/Martes/PDF/08.pdf>
- Saldívar-Iglesias, P., Laguna-Cerda, A., Gutiérrez-Rodríguez, F., & Domínguez-Galindo, M. (2010). Ácido giberélico en la Germinación de semillas de Jaltomata procumbens (Cav.) J. L. Gentry. *Agronomía Mesoamericana*, 21(2), 327–331.
- Sanewski, G. (1991). *Custard apples, cultivation and crop protection*.
- Shaista, A., & Amrita, P. (2016). Delicate, fragrant, lady of the night—A medicinal gift. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(6), 13–17.
- Sierra, T., García, R., & Ramírez, C. (2018). *Propagación in vitro de la especie frutícola de la costa caribe: Guanábana (Annona muricata) a partir de segmentos nodales*.
- Vishal, B., & Kumar, P. (2018, June). Regulation of Seed Germination and Abiotic Stresses by Gibberellins and Abscisic Acid. *Front. Plant Sci.*, 9. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2018.00838/full>
- Zhao, J., He, Y., Zhang, H., Wang, Z., Zhao, J., He, Y., Zhang, H., & Wang, Z. (2024). Advances in the molecular regulation of seed germination in plants. *Seed Biology*, 3(1), Article seedbio-0024-0005. <https://doi.org/10.48130/seedbio-0024-0005>

11. Anexos

Anexo 1. Secado de semilla



Anexo 2. Separación de semilla por tipo de exocarpo



Anexo 3. Escarificación de semilla



Anexo 4. Desinfección de semillas



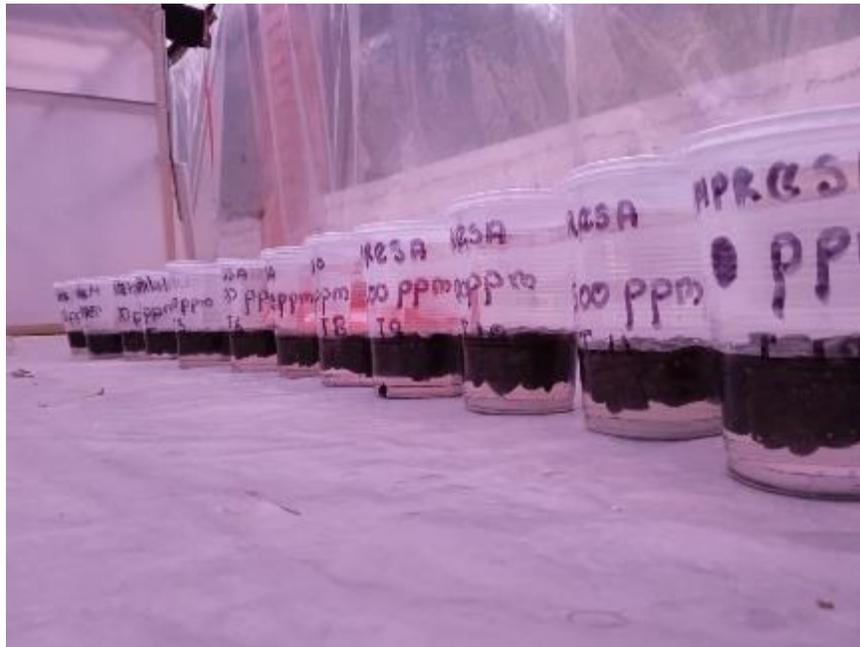
Anexo 5. Separación de semillas para aplicar tratamiento



Anexo 6. Colocación de tratamiento



Anexo 7. Semillas con los distintos tratamientos



Anexo 8. Desinfección de sustrato y llenado de fundas



Anexo 9. Ubicación del ensayo y colocación de etiquetas



Anexo 10. Certificación por traducción del apartado resumen al idioma inglés

Adrian Israel Chavez Ureña

CERTIFICA

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés, del resumen de tesis titulada **“Efecto de varias dosis de giberelinas en la germinación de diferentes eco tipos de chirimoya en Loja”** autoría de Danny Icel Góngora Cordero, con CI 0706444452, egresada de la carrera de Agronomía de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifica en honor a la verdad y autoriza al interesado a hacer uso del presente en lo que sus intereses convengan,

Loja, 19 de noviembre de 2024



Adrian Israel Chavez Ureña

Anexo 11. Aval del profesional encargado de la traducción del apartado resumen al idioma inglés



CAMBRIDGE ENGLISH
Language Assessment
Part of the University of Cambridge

**Cambridge English Entry Level Certificate in
ESOL International (Entry 3)***

This is to certify that
ADRIAN ISRAEL CHAVEZ UREÑA
has achieved
Council of Europe Level B1

Overall Score	154
Reading	144
Use of English	155
Writing	153
Listening	157
Speaking	163

Date of Examination **MAY (FS2) 2015**
Place of Entry **ECUADOR**
Reference Number **155EC0020006**
Accreditation Number **501/1426/8**

Saul Nassé
Saul Nassé
Chief Executive

*This level refers to the UK National Qualifications Framework

Regulated by
Ofqual
For more information see <http://regulation.ofqual.gov.uk>


Llywodraeth Cymru
Welsh Government


Accreditation

Date of Issue 06/07/15
Certificate Number 0049141834
01180962

DP008