

Germination responses in physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds to pregerminative treatments

Respuestas de germinación en semillas de piñón (*Jatropha curcas* L.) a tratamientos pregerminativos

Percy Díaz-Chuquizuta¹; Ofelia Andrea Valdés-Rodríguez^{2*}; Cheryl Tello-Salas¹

¹Desarrollo Integral de la Selva Cadis-Tierra Viva. Jr. Primero de Julio 404 - Urb. Los Jardines, Tarapoto, San Martín, PERÚ.

²El Colegio de Veracruz. Carrillo Puerto núm. 26, Xalapa, Veracruz, C. P. 91000, MÉXICO.

*Corresponding author: andrea.valdes@gmail.com, tel. (228) 842 51 00 ext. 129.

Abstract

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds may present germination problems due to their thick testa. Therefore, the aim of this research was to evaluate the effect of 13 pregerminative methods on germination of seeds and uniformity in the emergence of physic nut seedlings. The methods involved combining water, *Manilkara bidentata* ash and cuy (*Cavia porcellus*) manure with one of two substrates (either sawdust or sand). A completely randomized split-plot design was used. Three replicates of 50 seeds were made for each treatment. Germination onset, germination percentage and emergence percentage were evaluated. The results indicated that soaking in water at 62 °C was lethal to the embryo, while direct sowing in sand led to the latest germination onset. Soaking in manure and rubbing with ash plus soaking in manure, regardless of the substrate, allowed starting germination in two days and reaching more than 90 % emergence; therefore, it is concluded that these pregerminative treatments were the best.

Keywords: soaking, cuy manure, ash, hot water.

Resumen

Las semillas de piñón (*Jatropha curcas* L.) pueden presentar problemas de germinación debido a su testa gruesa. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de 13 métodos pregerminativos sobre la germinación de semillas y uniformidad en la emergencia de plántulas de piñón. Los métodos consistieron en la combinación de agua, cenizas de *Manilkara bidentata* y estiércol de cuy (*Cavia porcellus*), con dos sustratos (aserrín y arena). Se empleó un diseño completamente al azar con parcelas divididas. Se realizaron tres repeticiones de 50 semillas para cada tratamiento. Se evaluó inicio de germinación, porcentaje de germinación y emergencia. Los resultados indicaron que el remojo en agua a 62 °C fue letal para el embrión; mientras que la siembra directa en arena fue la más tardía para iniciar la germinación. El remojo en estiércol y la frotación con cenizas más remojo en estiércol, independientemente del sustrato, permitieron iniciar la germinación en dos días y alcanzar más de 90 % de emergencia; por lo que se concluye que estos tratamientos pregerminativos fueron los mejores.

Palabras clave: remojo, estiércol de cuy, ceniza, agua caliente.

Introduction

The physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a tropical species of the family Euphorbiaceae, which is native to the Americas. It is appreciated for its multiple uses and for its oil, which can be used as an alternative source of energy (Kumar & Sharma, 2006). This plant has thickly-coated seeds that, shortly after harvesting, present high levels of viability in contrast to their low germination levels, indicative of innate vegetative rest (Echeverría, Valles, & Rengifo, 2013). To induce sprouting, it is recommended to apply pregerminative treatments such as seed soaking and alternate soaking and drying times (Salazar & Soihet, 2001), which disinhibit latency, reinvigorate the seed and accelerate and increase germination (Sánchez, Orta, & Muñoz, 2001).

On the other hand, the selected substrate is essential to obtain quality plants, being the first mean of contact with the plant (Echeverría et al., 2013). Although there are several papers on pregerminative treatments of *J. curcas* seeds (Gairola, Nautiyal, & Dwivedi, 2011; Valdés-Rodríguez, Pérez-Vázquez, & Martínez, 2014), they do not consider the efficacy of using rodent manure or ash. However, it has been found that the manure of some animals improves the germination of certain seeds (Traveset, Bermejo, & Willson, 2001), while rubbing with ash could function like sandpaper to scarify the testa and facilitate moisture penetration.

In view of this information, the hypothesis that such treatments could be beneficial for *J. curcas* seeds was considered. Therefore, the aim of this research was to evaluate 13 pregerminative methods (with water, *Manilkara bidentata* ash and cuy [*Cavia porcellus*] manure) on germination and uniformity in the emergence of physic nut seeds.

Materials and methods

The experiment was carried out from August to October 2009. Physic nut seeds harvested during August 2009 from mature fruits and vigorous, healthy plants of the Totorillayco ecotype of the San Martín region, Peru were used. The average seed length and width were 19 and 8 mm, respectively.

Study site

The study was carried out in a 6.0 x 4.0 x 3.5 m brick greenhouse open at the sides, with a transparent acrylic gable roof, located in the district of San Martín, Peru (6° 29' 27" south latitude and 76° 22' 14" west longitude, at 293 masl). The environmental variables recorded were temperature and relative humidity, with averages of 26 °C and 78.5 %, respectively.

Introducción

El piñón (*Jatropha curcas* L.) es una especie tropical de la familia Euphorbiaceae originaria de América. Es apreciada por sus múltiples usos y por su aceite como fuente alternativa de energía (Kumar & Sharma, 2006). Esta planta posee semillas de cubierta gruesa que, poco después de la cosecha, presentan niveles altos de viabilidad en contraste con sus niveles bajos de germinación, indicación de reposo vegetativo innato (Echeverría, Valles, & Rengifo, 2013). Para inducir la brotación se recomienda aplicar tratamientos pregerminativos como el remojo de las semillas y tiempos alternos de remojo y secado (Salazar & Soihet, 2001), cuya función es desinhibir latencia, reinvigorizar la semilla y acelerar e incrementar la germinación (Sánchez, Orta, & Muñoz, 2001).

Por otra parte, la selección del sustrato es fundamental para obtener plantas de calidad, por ser el primer medio de contacto con la planta (Echeverría et al., 2013). Aunque existen varias publicaciones sobre tratamientos pregerminativos de semillas de *J. curcas* (Gairola, Nautiyal, & Dwivedi, 2011; Valdés-Rodríguez, Pérez-Vázquez, & Martínez, 2014), éstas no consideran la eficacia del uso de estiércol de roedores o cenizas. Sin embargo, se ha estudiado que el estiércol de algunos animales mejora la germinación de ciertas semillas (Traveset, Bermejo, & Willson, 2001), mientras que la frotación con cenizas podría funcionar como una lija para escarificar la testa y facilitar la penetración de la humedad.

Con los antecedentes mencionados, se consideró la hipótesis de que tales tratamientos podrían ser benéficos para las semillas de *J. curcas*. Por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar 13 métodos pregerminativos (con agua, ceniza de *Manilkara bidentata* y estiercol de cuy [*Cavia porcellus*]) sobre la germinación y uniformidad en la emergencia de las semillas de piñón.

Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo de agosto a octubre de 2009. Se utilizaron semillas de piñón recolectadas durante agosto de 2009, provenientes de frutos maduros y de plantas vigorosas y sanas del ecotipo Totorillayco de la región de San Martín, Perú. Los promedios de longitud y ancho de las semillas fueron 19 y 8 mm, respectivamente.

Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en un invernadero de ladrillo de 6.0 x 4.0 x 3.5 m abierto por los costados, con techo de dos aguas y acrílico transparente, localizado en el distrito de San Martín, Perú (6° 29' 27" latitud sur y 76° 22' 14" longitud oeste, a 293 msnm). Las variables ambientales registradas fueron

Treatments and sowing

The experiment consisted of 13 different pregerminative treatments with two substrates (Table 1). The substrates used were disinfected 1 h before sowing with hot water at 100 °C. The 1 m² germinators were constructed with wooden slats. The boxes were filled with substrate (up to 5 cm in height). The pre-treated seeds were sown horizontally to the depth of the seed thickness (approx. 1 cm) and with the caruncle down. They were watered daily by spraying to maintain moisture in the substrates.

A completely randomized split-plot design with the substrates as large plots and the pregerminative treatments as small plots was used. Three replicates of 50 seeds were made for each treatment.

The evaluated variables were germination onset, counting the days from sowing to the appearance of the radicle (approximately 0.4 cm), germination percentage every 24 hours, as the number of germinated seeds over the total planted, and emergence percentage, as the number of seedlings already emerged by the eighth day after sowing.

The analysis of variance was performed using the Statistical Analysis System program (SAS, 2004) and the means comparison was done with the Tukey test ($P \leq 0.05$).

Results and discussion

Germination onset

Highly significant statistical differences ($P \leq 0.01$) were obtained due to the effect of substrates, pregerminative treatments and their interaction (Table 2). In sawdust, germination started on average 1.3 days earlier than in sand. In both substrates, seed immersion in water for 24 h, cuy manure and ash rubbing allowed germination to start on average 1.41 and 11.95 days earlier than with direct sowing in sawdust and sand, respectively (Table 3). This indicates that the imbibition phase (the rapid absorption of water) was favored by soaking (Suárez & Melgarejo, 2010), while ash rubbing and cuy manure can be considered to affect the permeability of the testa and allow for better hydration of the embryo (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

Direct sowing in sand and immersion in water for 12 h in combination with sand showed the latest germination onsets with 14 and 13.7 days, respectively. This could be due to the poor water retention capacity of the sand, which prevented seeds from reaching adequate hydration to initiate germination (40-60 % moisture, according to Montes [1998]); on the other hand, under the same conditions, germination in sawdust began

temperatura y humedad relativa, con promedios de 26 °C y 78.5 %, respectivamente.

Tratamientos y siembra

El experimento consistió en 13 diferentes tratamientos pregerminativos con dos sustratos (Cuadro 1). Los sustratos utilizados se desinfectaron 1 h antes de la siembra con agua caliente a 100 °C. Los germinadores se construyeron de 1 m² con tablillas de madera. Las cajas se llenaron con sustrato (hasta 5 cm de altura). Las semillas pre-tratadas se sembraron en posición horizontal a profundidad del grueso de la semilla (1 cm aprox.) y con la carúncula hacia abajo. Se regaron diariamente por aspersión para mantener la humedad en los sustratos.

Se utilizó un diseño completamente al azar con parcelas divididas, con los sustratos como parcelas grandes y los tratamientos pregerminativos como parcelas pequeñas. Se realizaron tres repeticiones de 50 semillas para cada tratamiento.

Las variables evaluadas fueron el inicio de la germinación, contando los días desde la siembra hasta la aparición de la radícula (0.4 cm aproximadamente); el porcentaje de germinación cada 24 horas, como el número de semillas germinadas sobre el total sembrado, y el porcentaje de emergencia, como el número de plántulas ya emergidas al octavo día después de la siembra.

El análisis de varianza se realizó con el programa Statistical Analysis System (SAS, 2004) y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Inicio de germinación

Se obtuvieron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) por efecto de sustratos, tratamientos pregerminativos y su interacción (Cuadro 2). En aserrín, la germinación inició en promedio 1.3 días antes que en arena. En ambos sustratos, la inmersión de semillas en agua por 24 h, el estiércol de cuy y la frotación con cenizas permitieron que el inicio de germinación fuera en promedio de 1.41 y 11.95 días antes que la siembra directa para aserrín y arena, respectivamente (Cuadro 3). Lo anterior indica que la fase de imbibición (la absorción rápida de agua) se vio favorecida por el remojo (Suárez & Melgarejo, 2010). Mientras que, se puede considerar que la frotación con ceniza y el estiércol de cuy afectaron la permeabilidad de la testa y permitieron una mejor hidratación del embrión (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

La siembra directa en arena y la inmersión en agua por 12 h en combinación con arena presentaron los

Table 1. Description of treatments evaluated in the germination and emergence of physic nut seeds (*Jatropha curcas* L.).**Cuadro 1. Descripción de tratamientos evaluados en la germinación y emergencia de semillas de piñón (*Jatropha curcas* L.).**

Substrate/ Sustrato	Treatment/Tratamiento	Key/ Clave	Description/Descripción
Sawdust or sand/ Aserrín o arena	Control/Testigo	T1	Direct sowing/Siembra directa
	Seed immersion in water for 12 h/ Inmersión de semillas en agua por 12 h	T2	Water at room temperature/ Agua a temperatura ambiente
	Seed immersion in water for 24 h/ Inmersión de semillas en agua por 24 h	T3	Water at room temperature/ Agua a temperatura ambiente
	Seed immersion in water for 24 h with water change at 12 h/Inmersión de semillas en agua por 24 h con cambio de agua a las 12 h	T4	Water change at room temperature every 12 hours/ Cambio de agua a temperatura ambiente cada 12 horas
	Seed immersion in decomposed cuy (<i>Cavia porcellus</i>) manure tea for 12 h/Inmersión de semillas en té de estiércol descompuesto de cuy (<i>Cavia porcellus</i>) por 12 h	T5	Three-month-old cuy manure diluted in water (0.5 kg in 0.5 L of water), left to stand for seven days and then diluted again in water (15 mL-L)/ Estiércol de tres meses de cuy diluido en agua (0.5 kg en 0.5 L de agua) reposado por siete días y luego diluido nuevamente en agua (15 mL-L)
	Seed immersion in fresh cuy manure extract for 12 h/Inmersión de semillas en extracto de estiércol fresco de cuy por 12 h	T6	The fresh cuy manure diluted in water (0.5 kg in 0.5 L of water) was sieved to obtain the solution in which the seeds were immersed./ El estiércol fresco de cuy diluido en agua (0.5 kg en 0.5 L de agua) se tamizó para obtener la solución en la cual se sumergieron las semillas.
	Rubbing seeds with ash for 15 min + immersion in water for 12 h/Frotación de semillas con ceniza por 15 min + inmersión en agua por 12 h	T7	<i>Manilkara bidentata</i> ash with particles smaller than 2.5 mm and water at room temperature/ Ceniza de <i>Manilkara bidentata</i> con partículas menores a 2.5 mm y agua a temperatura ambiente
	Rubbing seeds with ash for 15 min + immersion in fresh cuy manure tea for 12 h/Frotación de semillas con ceniza por 15 min + inmersión en té de estiércol fresco de cuy por 12 h	T8	<i>Manilkara bidentata</i> ash with particles smaller than 2.5 mm and fresh manure tea/Ceniza de <i>Manilkara bidentata</i> con partículas menores a 2.5 mm y té de estiércol fresco
	Seed immersion with fresh cuy manure tea for 12 h/Inmersión de semillas con té de estiércol fresco de cuy por 12 h	T9	Seeds submerged for 12 hours at a dilution of 15 mL-L of fresh manure tea prior to sowing/ Semillas sumergidas por 12 horas en una dilución de 15 mL-L de té de estiércol fresco previo a la siembra
	Seed immersion in fresh cuy manure for 24 h/Inmersión de semillas en estiércol fresco de cuy por 24 h	T10	Seeds submerged for 24 hours in 500 g of fresh manure tea prior to sowing/Semillas sumergidas por 24 horas en 500 g de estiércol fresco previo a la siembra
	Seed immersion in decomposed cuy manure for 24 h/Inmersión de semillas en estiércol descompuesto de cuy por 24 h	T11	Seeds submerged for 24 hours in 500 g of three-month-old manure prior to sowing/ Semillas sumergidas por 24 horas en 500 g de estiércol de tres meses previo a la siembra
	Seed immersion in water at 62 °C for 10 min/ Inmersión de semillas en agua a 62 °C por 10 min	T12	1 L of water at 100 °C was left to stand 20 min ($t_{final} = 62 °C$)/1 L de agua a 100 °C se dejó reposar 20 min ($t_{final} = 62 °C$)
	Seed immersion in water at 47 °C for 10 min/ Inmersión de semillas en agua a 47 °C por 10 min	T13	1 L of water at 100 °C was left to stand 30 min ($t_{final} = 47 °C$)/1 L de agua a 100 °C se dejó reposar 30 min ($t_{final} = 47 °C$)

Table 2. Significances obtained in the analysis of variance for the response of *Jatropha curcas* L. seeds to different treatments.**Cuadro 2. Significancias obtenidas en el análisis de varianza para la respuesta de semillas de *Jatropha curcas* L. a diferentes tratamientos.**

Source of variation / Fuente de variación	Degrees of freedom / Grados de libertad	Germination onset (days) / Inicio de germinación (días)	Germination percentage / Porcentaje de germinación	Emergence percentage / Porcentaje de emergencia
S ¹	1	32.05**	576.21**	1063.38**
Error a	4	0.24	1.28	5.64
PT/TP	12	51.51**	5446.06**	5240.43**
PT x S/TP x S	12	18.47**	968.09**	992.94**
Error b	48	0.17	17.48	24.03
Total	77			
CV (%)		13.45	6.12	7.21

¹S: substrates, PT: pregerminative treatments and CV: coefficient of variation.

** Significant with $P < 0.01$

¹S: sustratos, TP: tratamientos pregerminativos y CV: coeficiente de variación.

** Significativo con $P < 0.01$

on average 8.8 days earlier. The sawdust, by storing moisture inside its fibers and having porosity greater than 80 % (Maher, Prasad, & Raviv, 2008), provided a better balance between moisture and aeration for the seeds, accelerating their germination.

On the other hand, immersion in water at 62 °C was lethal to the embryo. Similar damage is reported with *Centrosema rotundifolium* seeds (Sanabria, Silva, Oliveros, & Barrios, 2001). However, Sánchez-Paz and Ramírez-Villalobos (2006) obtained improvements in germination by immersing *Leucaena leucocephala* seeds for 10 min in water at 80 °C, so this factor is thought to depend on the species (Probert, 2010).

Germination percentage

Highly significant statistical differences ($P \leq 0.01$) were obtained due to the effect of substrates, pregerminative treatments and their interaction (Table 2). The substrate with the highest germination percentage was the sawdust, which surpassed the sand with 5.4 %. In sawdust, soaking the seeds for 24 h or in warm water improved germination by 15.3 % compared to the control, while in sand it was better by 66.67 % under the same conditions. On the other hand, the combinations that used manure, ash or manure plus ash improved the germination percentage by 21.69 and 92.46% in sawdust and sand, respectively. In this respect, ash is considered to have worked as an abrasive to thin the testa, to allow the action of microorganisms that degrade it and to facilitate imbibition, while cuy manure, thanks to its humic acids, provided nutrients and phytohormones that promoted physiological activities and stimulated seed activation (Hartwigsen & Evans, 2000; Restrepo-Rivera, 2007).

inicios de germinación más tardíos con 14 y 13.7 días, respectivamente. Esto pudo deberse a la poca capacidad de retención de agua de la arena, lo que impidió a las semillas alcanzar la hidratación adecuada para iniciar la germinación (40 a 60 % de humedad, según Montes [1998]); mientras que bajo las mismas condiciones, en aserrín la germinación inició en promedio 8.8 días antes. El aserrín, por almacenar la humedad dentro de sus fibras y tener porosidad superior a 80 % (Maher, Prasad, & Raviv, 2008), proporcionó mejor balance entre humedad y aireación para las semillas, acelerando su germinación.

Por otra parte, la inmersión en agua a 62 °C fue letal para el embrión. Daños similares se reportan con semillas de *Centrosema rotundifolium* (Sanabria, Silva, Oliveros, & Barrios, 2001). Sin embargo, Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) obtuvieron mejoras en la germinación al sumergir semillas de *Leucaena leucocephala* durante 10 min en agua a 80 °C, por lo que se considera que este factor depende de la especie (Probert, 2010).

Porcentaje de germinación

Se obtuvieron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) por efecto de sustratos, tratamientos pregerminativos y su interacción (Cuadro 2). El sustrato con mayor porcentaje de germinación fue el aserrín, que superó a la arena con 5.4 %. En aserrín, el remojo de las semillas por 24 h o en agua tibia mejoró la germinación en 15.3 % con respecto al testigo, mientras que en arena fue mejor por 66.67 %, en las mismas condiciones. Por su parte, las combinaciones que utilizaron estiércol, ceniza o estiércol más ceniza mejoraron en 21.69 y 92.46 % en aserrín y arena, respectivamente. A este respecto, se considera que la ceniza funcionó como abrasivo para adelgazar la testa,

Table 3. Comparison of means of substrates and treatments for the germination of *Jatropha curcas* L. seeds
Cuadro 3. Comparación de medias de sustratos y tratamientos para la germinación de semillas de *Jatropha curcas* L.

Substrate/Sustrato	Treatment/Tratamiento	Germination onset (days)/Inicio de germinación (días)	Germination (%), 5 das)/ Germinación (%), 5 dds)	Emergence (%), 8 das)/ Emergencia (%), 8 dds)
Sawdust/Aserrín	T1 ¹	3.3 d ²	62.7 de	74.0 cd
	T2	6.7 b	43.3 f	43.3 f
	T3	1.3 f	80.7 bc	80.7 bc
	T4	1.7 ef	82.7 bc	82.7 bc
	T5	2.0 ef	80.0 bc	80.0 bc
	T6	2.0 ef	80.0 bc	80.0 bc
	T7	2.0 ef	80.0 bc	80.0 bc
	T8	2.0 ef	90.7 ab	90.7 ab
	T9	2.0 ef	100.0 a	100.0 a
	T10	2.0 ef	100.0 a	100.0 a
	T11	2.0 ef	60.0 de	60.0 de
	T12			
	T13	5.0 c	70.7 cd	60.0 de
Sand/Arena	T1	14.0 a	0.0 h	0.0 g
	T2	13.7 a	12.7 g	12.7 g
	T3	2.0 ef	81.3 bc	81.3 bc
	T4	1.7 ef	66.7 d	60.7 de
	T5	2.0 ef	100.0 a	100.0 a
	T6	2.0 ef	91.3 ab	100.0 a
	T7	2.0 ef	91.3 ab	82.0 bc
	T8	2.0 ef	91.3 ab	91.3 ab
	T9	2.7 de	82.0 bc	82.0 bc
	T10	2.0 ef	91.3 ab	91.3 ab
	T11	2.0 ef	100.0 a	82.0 bc
	T12			
	T13	2.7 de	52.0 ef	52.0 ef
HSD/DMSH		1.33	13.43	15.61

²Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.01$).

HSD: honest significant difference, das: days after sowing.

¹T1: control, T2: seed immersion in water for 12 h, T3: seed immersion in water for 24 h, T4: seed immersion in water for 24 h with water change at 12 h, T5: seed immersion in decomposed cuy manure tea for 12 h, T6: seed immersion in fresh cuy manure extract for 12 h, T7: rubbing of seeds with ash for 15 min + immersion in water for 12 h, T8: rubbing of seeds with ash for 15 min + immersion in fresh cuy manure tea for 12 h, T9: seed immersion with fresh cuy manure tea for 12 h, T10: seed immersion in fresh cuy manure for 24 h, T11: seed immersion in decomposed cuy manure for 24 h, T12: seed immersion in water at 62 °C for 10 min and T13: seed immersion in water at 47 °C for 10 min.

²Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.01$).

DMSH: diferencia mínima significativa honesta, dds: días después de la siembra.

T1: testigo, T2: inmersión de semillas en agua por 12 h, T3: inmersión de semillas en agua por 24 h, T4: inmersión de semillas en agua por 24 h cambiando el agua a las 12 h, T5: inmersión de semillas en té de estiércol descompuesto de cuy por 12 h, T6: inmersión de semillas en extracto de estiércol fresco de cuy por 12 h, T7: frotación de semillas con ceniza por 15 min + inmersión en agua por 12 h, T8: frotación de semillas con ceniza por 15 min + inmersión en té de estiércol fresco de cuy por 12 h, T9: inmersión de semillas con té de estiércol fresco de cuy por 12 h, T10: inmersión de semillas en estiércol fresco de cuy por 24 h, T11: inmersión de semillas en estiércol descompuesto de cuy por 24 h, T12: inmersión de semillas en agua a 62 °C por 10 min y T13: inmersión de semillas en agua a 47 °C por 10 min.

With seed soaking for 12 h and sowing in sand, germination was 60 % lower than that reported in other studies with Mexican physic nut seeds (Valdés-Rodríguez, Sánchez-Sánchez, & Pérez-Vázquez, 2013). This may be due to the type of sand used, which in this case was river sand, since Valdés-Rodríguez et al. (2013) used dune sand, which could be finer and retain more water, favoring the hydration of the seed.

Emergence percentage

Highly significant statistical differences ($P \leq 0.01$) were obtained due to the effect of treatments, substrates and their interaction (Table 2). On average, emergence was 7.38 % higher in sawdust than in sand, since it was higher in T1 and T2 (Table 3). However, both substrates recorded similar emergence percentages in T3, T7 and T8 (Table 3). In the treatments where the lowest percentages were obtained, seed rot and radicle damage problems were observed.

According to these results, the sand, as compared to the sawdust, considerably limited germination and emergence in T1 and T2 (Table 3). This could be due to the fact that sand has a lower capacity to store moisture, so the hydration of the seeds was less efficient. However, by using ash or manure the testa was successfully penetrated and emergence in sand improved by 90 % in relation to direct sowing. On average, these treatments with both substrates increased emergence by 50 % in relation to T1 and 27 % in relation to soaking in water for 12 or 24 hours. Therefore, the use of organic materials such as manure or inorganic substances such as ash provided protection to the seeds due to the presence of phytohormones, minerals and beneficial microorganisms (Restrepo-Rivera, 2007).

Conclusions

Pregerminative treatments that involve soaking the seed in water for 24 hours and especially the use of cuy manure or rubbing with ash improve the germination of *Jatropha curcas* L. seeds and the emergence of the seedlings, by being able to soften their thick testa and facilitate the hydration of the seed and the embryo's respiration.

permitir la acción de microorganismos que la degradaran y facilitar la imbibición; mientras que el estiércol de cuy, gracias a sus ácidos húmicos, proporcionó nutrientes y fitohormonas que promovieron las actividades fisiológicas y estimularon la activación de las semillas (Hartwigsen & Evans, 2000; Restrepo-Rivera, 2007).

Con el remojo de la semilla por 12 h y siembra en arena la germinación fue 60 % menor a lo reportado en otras investigaciones con semillas de piñón mexicanas (Valdés-Rodríguez, Sánchez-Sánchez, & Pérez-Vázquez, 2013). Esto pudo deberse al tipo de arena utilizado, que en este caso fue de río, ya que Valdés-Rodríguez et al. (2013) utilizaron arena de dunas, la cual pudo ser más fina y retener mayor cantidad de agua, favoreciendo la hidratación de la semilla.

Porcentaje de emergencia

Se obtuvieron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) por efecto de tratamientos, sustratos y su interacción (Cuadro 2). En promedio, la emergencia fue 7.38 % mayor en aserrín que en arena, ya que fue mayor en el T1 y T2 (Cuadro 3). Sin embargo, ambos sustratos registraron porcentajes de emergencia similares en el T3, T7 y T8 (Cuadro 3). En los tratamientos donde se obtuvieron los porcentajes más bajos se observaron problemas de pudrición de semillas y daño de radícula.

De acuerdo con estos resultados, la arena, en comparación con el aserrín, limitó considerablemente la germinación y emergencia en el T1 y T2 (Cuadro 3). Lo anterior pudo deberse a que la arena tiene una menor capacidad de almacenar humedad, por lo que la hidratación de las semillas fue menos eficiente. No obstante, al usar cenizas o estiércol se logró penetrar la testa y la emergencia en arena mejoró hasta 90 % en relación con la siembra directa. En promedio, estos tratamientos con ambos sustratos incrementaron la emergencia 50 % en relación con el T1 y 27 % en cuanto al remojo en agua por 12 o 24 h. Por ello, se puede considerar que el empleo de materiales orgánicos como estiércol o inorgánicos como la ceniza aportaron protección a la semillas debido a la presencia de fitohormonas, minerales y microorganismos benéficos (Restrepo-Rivera, 2007).

Conclusiones

Los tratamientos pregerminativos que involucran el remojo de la semilla en agua por 24 h y, especialmente, el uso de estiércol de cuy y la frotación con ceniza mejoran la germinación de semillas de *Jatropha curcas* L. y la emergencia de las plántulas, al ser capaces de reblanecer su testa gruesa y facilitar la hidratación de la semilla y la respiración del embrión.

References / Referencias

- Echeverría, R., Valles, A., & Rengifo, L. (2013). *Manual de producción de piñón blanco (Jatropha curcas L.)*. Tarapoto, Perú: Instituto Nacional de Innovación Agraria.
- Finch-Savage, W. E., & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501-523. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x
- Gairola, K. C., Nautiyal, A. R., & Dwivedi, A. K. (2011). Effect of temperatures and germination media on seed germination of *Jatropha curcas* Linn. *Advances in Bioresearch*, 2(2), 66-71. Retrieved from <http://soeagra.com/abr/december%202011/11.pdf>
- Hartwigsen, J. A., & Evans, M. R. (2000). Humic acid seed and substrate treatments promote seedling root development. *Hort Science*, 35(7), 1231-1233. Retrieved from <http://hortsci.ashpublications.org/content/35/7/1231.full.pdf>
- Kumar, A., & Sharma, S. (2006). An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropa curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products*, 28(1), 1-10. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.01.001
- Maher, M., Prasad, M., & Raviv, M. (2008). Organic Soilless Media Components. In: Raviv, M., & Lieth, J. H. (Eds.), *Soilless Culture: Theory and Practice* (pp. 459-504). New York, USA: Elsevier.
- Montes, A. (1998). *Fisiología de semillas*. Tegucigalpa, Honduras: Zamorano Academic Press.
- Probert, R. J. (2010). The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities* (pp. 261-292). London, England: CABI Publishing.
- Restrepo-Rivera, J. (2007). *Manual Práctico: El ABC de la agricultura orgánica y harina de rocas*. Managua, Nicaragua: Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible.
- Salazar, R., & Soihet, C. (2001). *Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina*. Turrialba, Costa Rica: CATIE.
- Sanabria, D., Silva, R., Oliveros, M. A., & Barrios, R. (2001). Escarificación química y térmica de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium*. *Bioagro*, 13(3), 117-124. Retrieved from [http://www.ucla.edu/ve/bioagro/Rev13\(3\)/5.%20Escarificaci%C3%B3n%20qu%C3%ADmica.pdf](http://www.ucla.edu/ve/bioagro/Rev13(3)/5.%20Escarificaci%C3%B3n%20qu%C3%ADmica.pdf)
- Sánchez, J. A., Orta, R., & Muñoz, B. C. (2001). Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*, 25(1), 67-91. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/436/43625107.pdf>
- Sánchez-Paz, Y., & Ramírez-Villalobos, M. (2006). Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(3), 257-272. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182006000300001
- Statistical Analysis System (SAS). (2004). *SAS User's Guide, version 9.4*. Cary, USA: Author.
- Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de las semillas. In: Melgarejo, L. M. (Ed.), *Experimentos en Fisiología Vegetal* (pp. 13-24). Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Traveset, A., Bermejo, T., & Willson, M. (2001). Effect of manure composition on seedling emergence and growth of two common shrub species of Southeast Alaska. *Plant Ecology*, 155(1), 29-34. doi: 10.1023/A:1013282313035
- Valdés-Rodríguez, O. A., Pérez-Vázquez, A., & Martínez, A. J. (2014). Effects of seed weight and substrate on germination and growth of non-toxic *Jatropha curcas* L. seedlings. *Annual Research & Review in Biology*, 4(24), 4232-4245. Retrieved from http://www.journalrepository.org/media/journals/ARRB_32/2014/Aug/Rodryguez4242014ARRB11697_1.pdf
- Valdés-Rodríguez, O. A., Sánchez-Sánchez, O., & Pérez-Vázquez, A. (2013). Effects of soil texture on germination and survival of non-toxic *Jatropha curcas* seeds. *Biomass and Bioenergy*, 48, 167-170. doi: 10.1016/j.biombioe.2012.10.025