





## Efecto del ácido salicílico sobre la germinación y crecimiento inicial del café (*Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95)

Effect of salicylic acid on the germination and initial growth of coffee (*Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95)

Efeito do ácido salicílico sobre a germinação e crescimento inicial do café (*Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95)

Alder Gordillo Curiel<sup>1</sup>, Luis Alfredo Rodríguez Larramendi<sup>1\*</sup>, Miguel Ángel Salas Marina<sup>1</sup> y María de los Ángeles Rosales Esquinca<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Ingeniería Agroforestal, subsede Villa Corzo. km 3.0 carretera Villa Corzo-Monterrey C.P 30520. Correo electrónico: (AG) [alder.gordillo@unicach.mx](mailto:alder.gordillo@unicach.mx), ; (LR) [alfredo.rodriguez@unicach.mx](mailto:alfredo.rodriguez@unicach.mx), ; (MS) [miguel.salas@unicach.mx](mailto:miguel.salas@unicach.mx), ; <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agronómicas. Campus V. Carretera Villaflores-Ocozocoautla km 84.5 C.P. 30470. Correo electrónico: [rosalesm@unach.mx](mailto:rosalesm@unach.mx) .

### Resumen

El establecimiento de nuevas plantaciones de cafetos requiere plántulas vigorosas y sanas que garanticen un buen crecimiento y altos rendimientos; de ahí la importancia del estudio del efecto de sustancias bioestimulantes en las fases tempranas de la ontogenia del cultivo. En este sentido, se estudió el efecto combinado de cinco concentraciones de ácido salicílico (0; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 y 1 mM) y diferentes tiempos de imbibición de las semillas (1, 2, 3 y 4 h), sobre la germinación y crecimiento inicial de plántulas de cafetos (*Coffea arabica* L.) variedad Costa Rica 95. El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo bifactorial, con 24 tratamientos y 20 repeticiones. Se evaluó el porcentaje y tasa de germinación, altura y diámetro del hipocótilo. Los resultados demostraron que las concentraciones (0,0125; 0,025 y 0,05 mM) y tiempos de imbibición de las semillas de 3 y 4 h en ácido salicílico promueven una germinación temprana y un efecto positivo en la altura y el diámetro del hipocótilo. Los hallazgos obtenidos demuestran que el ácido salicílico aplicado en bajas concentraciones puede ser utilizado para acelerar la germinación

Recibido el 25-02-2020 • Aceptado el 21-07-2020.

\*Autor de correspondencia. Correo electrónico: [alfredo.rodriguez@unicach.mx](mailto:alfredo.rodriguez@unicach.mx)

de semillas de café e inducir el crecimiento inicial de plántulas de cafetos, al tiempo que pudiera considerarse como una opción viable para los productores cafetaleros, tanto por su fácil aplicación como la inocuidad del producto.

**Palabras clave:** ácido salicílico, germinación, crecimiento, café.

### Abstract

The establishment of new coffee plantations requires vigorous and healthy seedlings that guarantee good growth and high yields; hence the importance of studying the effect of bio-stimulant substances in the early stages of the crop's ontogeny. In this sense, the combined effect of five concentrations of salicylic acid (0; 0.0125; 0.025; 0.05; 0.1 and 1 mM) and different times of imbibition of the seeds (1, 2, 3 and 4 h), on the germination and initial growth of coffee plants (*Coffea arabica* L.) variety Costa Rica 95 was studied. The experimental design was completely randomized with a bifactorial arrangement, with 24 treatments and 20 repetitions. The percentage and germination rate, height and diameter of the hypocotyl were evaluated. The results showed that the concentrations (0.0125; 0.025 and 0.05 mM) and imbibition times of the seeds of 3 and 4 h in salicylic acid promoted an early germination and a positive effect on the height and diameter of the hypocotyl. The findings show that salicylic acid applied in low concentrations can be used to accelerate the germination of coffee seeds and induce the initial growth of coffee plantlets, while it could be considered as a viable option for coffee producers, both for its easy application and the safety of the product.

**Keywords:** salicylic acid, germination, growth, coffee.

### Resumo

O estabelecimento de novas plantações de café requer mudas vigorosas e saudáveis que garantam um bom crescimento e altos rendimentos; daí a importância de estudar o efeito das substâncias bioestimulantes nos estágios iniciais da ontogenia da cultura. Neste sentido, foi estudado o efeito combinado de cinco concentrações de ácido salicílico (0; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 e 1 mM) e diferentes tempos de imbibição das sementes (1, 2, 3 e 4 h), sobre a germinação e crescimento inicial das mudas de plantas de café (*Coffea arabica* L.) variedade Costa Rica 95. O projeto experimental foi completamente randomizado com uma disposição bifatorial, com 24 tratamentos e 20 repetições. A porcentagem e a taxa de germinação, altura e diâmetro do hipocótilo foram avaliadas. Os resultados mostraram que as concentrações (0,0125; 0,025 e 0,05 mM) e os tempos de imbibição das sementes de 3 e 4 h em ácido salicílico promovem uma germinação precoce e um efeito positivo sobre a altura e o diâmetro do hipocótilo. Os resultados mostram que o ácido salicílico aplicado em baixas concentrações pode ser usado para acelerar a germinação dos grãos de café e induzir o crescimento inicial dos pés de café, enquanto que poderia ser considerado como uma opção viável para os produtores de café, tanto por sua fácil aplicação como pela segurança do produto.

**Palavras-chave:** ácido salicílico, germinação, crescimento, café.

## Introducción

La introducción de nuevos materiales genéticos en las plantaciones de café en Chiapas, México, ha cobrado importancia debido a la necesidad de reemplazar variedades susceptibles a la roya (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.). El ataque de este hongo en el año 2012 devastó plantaciones de los cafetales de la Sierra Madre de Chiapas en México, las cuales sufrieron pérdidas del 70 % de la producción (Castiaux *et al.*, 2014).

La obtención de plántulas vigorosas es un factor importante en la renovación de cafetales, pues ello garantiza que las variedades expresen su mejor potencial productivo en campo (Sadeghian y Zapata, 2015). El crecimiento inicial de las plántulas es de vital importancia y se requieren de muchos cuidados para lograr plantas vigorosas, sanas y con buen desarrollo. En este sentido, se han realizado investigaciones y nuevos aportes al conocimiento relacionadas con el crecimiento inicial de plántulas de café, evaluando desde dosis de fertilización mineral, uso de microorganismos benéficos, reguladores de crecimiento como brasinoesteroides, citocininas entre otros, con la finalidad de obtener plantas vigorosas desde su temprana edad (Cruz-Castillo *et al.*, 1999; Utria-Borges *et al.*, 2004; Anaya *et al.*, 2011; Sadeghian-Khalajabadi y González-Osorio, 2014).

En esta misma línea, el uso de compuesto fenólicos ha cobrado importancia en los últimos años, aunque su aplicación inició en los

## Introduction

The introduction of new genetic materials in coffee plantations in Chiapas, Mexico, has become important because of the necessity to replace varieties susceptible to rust (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.). The attack of this fungus in 2012 devastated coffee plantations in the Sierra Madre of Chiapas, which lost a 70 % of production (Castiaux *et al.*, 2014).

An important factor in the renewal of coffee plantations is obtaining vigorous seedlings, since this guarantees that the varieties express their best productive potential in the field (Sadeghian and Zapata, 2015). The initial growth of the seedlings has a vital importance and require especial cares to achieve vigorous, healthy and well-developed plants. In this sense, research and new contributions to knowledge related to the initial growth of coffee seedlings have been carried out evaluating some aspect such as doses of mineral fertilization, the use of beneficial microorganisms, growth regulators brassinosteroids, cytokines, etc.; In order to obtain vigorous plants from an early age (Cruz-Castillo *et al.*, 1999; Utria-Borges *et al.*, 2004; Anaya *et al.*, 2011; Sadeghian-Khalajabadi and González-Osorio, 2014).

In recent years, the use of phenolic compounds has gained importance although its application began in the 1970s. Salicylic acid (AS), or ortho-hydroxybenzoic acid, are a phenolic compound found in plants (Hayat *et al.*, 2013). The first investigation of this compound on the physiology of

años setenta. El ácido salicílico (AS) o ácido orto-hidroxibenzoico, es un compuesto fenólico que se encuentra en las plantas (Hayat *et al.*, 2013). El primer reporte de una investigación de este compuesto sobre la fisiología de las plantas en México, fue sobre su efecto en el estatus hídrico de plántulas de frijol (Larqué-Saavedra, 1978). A partir de este hecho se han realizado investigaciones sobre el AS y su efecto en el crecimiento de raíces y en la floración, germinación, procesos asociados al estado hídrico de las plantas y su relación en el sistema de defensa que desarrollan las plantas ante la presencia de patógenos (Cleland y Tanaka, 1979; Manthe *et al.*, 1992; Barskosky y Einhellig, 1993; Bandurska y Ski, 2005; Rajjou, 2006; Echevarría-Machado *et al.*, 2007; Korkmaz *et al.*, 2007; Gharib y Hegazi, 2010; Nazar *et al.*, 2017; Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017).

No se ha estudiado lo suficiente sobre el efecto que tiene la aplicación del AS en especies cultivadas, en comparación con otros reguladores de crecimiento. Sin embargo, las respuestas de las plantas al efecto del AS y particularmente ante situaciones de estrés biótico son las más abundantes en la literatura (Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017).

Se ha demostrado que el AS puede retrasar e inhibir la germinación o aumentar el vigor de la semilla. Estos resultados contradictorios pueden estar relacionados con las concentraciones de AS empleadas (Hayat *et al.*, 2013). En cebada (*Hordeum vulgare* L.) dosis de AS mayores de 0,25 mM de AS

plants in Mexico was about its effect in the water status of bean seedlings (Larqué - Saavedra, 1978). From this fact, some researches has been realized about SA and its effect in growth root and flowering, germination and processes associated with the water state of plants and their relationship with the defense system that plants develop against the presence of pathogens (Cleland and Tanaka, 1979; Manthe *et al.*, 1992; Barskosky and Einhellig, 1993; Bandurska and Ski, 2005; Rajjou, 2006; Echevarría-Machado *et al.*, 2007; Korkmaz *et al.*, 2007; Gharib and Hegazi, 2010; Nazar *et al.*, 2017; Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017).

Not enough has been studied about the effect that the application of AS has on cultivated species, compared to other growth regulators. However, the plant responses to the effect of SA and particularly to situations of biotic stress are the most abundant in the literature (Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017).

Many investigations have been shown that the use of AS delay and inhibit germination or increase seed vigor. These contradictory results may be related to the concentrations of SA used (Hayat *et al.*, 2013). In barley (*Hordeum vulgare* L.) the doses of AS greater than 0.25 mM inhibited germination (Xie *et al.*, 2007), while in *Arabidopsis thaliana*, AS concentrations superior to 1 mM delayed and inhibited germination (Rajjou, 2006). Similarly, in corn (*Zea mays* L.) a complete inhibition of seed germination was observed with doses of 3-5 mM AS (Guan and Scandalios, 1995).

inhibieron la germinación (Xie *et al.*, 2007), mientras que en *Arabidopsis thaliana*, concentraciones superiores a 1 mM de AS retrasaron e inhibieron la germinación (Rajjou, 2006). De igual manera en maíz (*Zea mays* L.) se observó una completa inhibición de la germinación de las semillas con dosis de 3-5 mM de AS (Guan y Scandalios, 1995).

En contraparte, existen reportes del efecto estimulante del AS en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) tratadas con una concentración de 0,05 mM de AS y 3 horas de imbibición (Shakirova, 2007). Otro efecto positivo en la germinación, se observó en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas con una concentración de AS de 0,1 mM durante 6 horas en condiciones de estrés por frío. Los resultados mostraron incrementos significativos en el porcentaje de germinación y la tasa de germinación (Gharib y Hegazi, 2010). En este mismo cultivo, Rodríguez-Larramendi *et al.* (2017) evaluaron el efecto de diferentes concentraciones y diferentes tiempos de imbibición en AS, encontrando que la imbibición de semillas durante 1 y 2 h, a concentraciones de 0,01 y 0,025 mM estimuló la germinación y el crecimiento inicial de las plántulas.

De acuerdo con los antecedentes mostrados y la importancia que reviste el cultivo del café para la región Frailesca de Chiapas en México; se realizó la presente investigación con el objetivo de estudiar el efecto de concentraciones y tiempos de imbibición de ácido salicílico sobre la

In contrast, there are reports of SA stimulating effect on seed germination and wheat seedlings growth (*Triticum aestivum* L.) treated with a concentration of 0.05 mM SA and 3 hours of imbibition (Shakirova, 2007). Another positive effect on germination was observed in bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) treated with a SA concentration of 0.1 mM for 6 hours under cold stress conditions. The results showed significant increases in the germination percentage and the germination rate (Gharib and Hegazi, 2010). In this same crop, Rodríguez-Larramendi *et al.* (2017) evaluated the effect of different imbibition times and SA concentrations, finding that seed imbibition for 1 and 2 h, in concentrations of 0.01 and 0.025 mM, stimulated germination and initial growth of seedlings.

According to the background shown and the importance of coffee cultivation for the Frailesca region of Chiapas in Mexico; The present investigation was carried out with the aim of studying the effect of salicylic acid on several concentrations and imbibition times in the germination and initial growth of *Coffea arabica* (L.) variety Costa Rica 95.

## Materials and methods

### Location

A rustic greenhouse of 50 m<sup>2</sup> with a black polyethylene mesh that allowed 50 % of shade was established, in the experimental area of Villa Corzo headquarters on the Facultad de Ingeniería de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas en Villa

germinación y crecimiento inicial de *Coffea arabica* (L.) variedad Costa Rica 95.

## Materiales y métodos

### Localización

Se estableció un invernadero rústico de 50 m<sup>2</sup>, con una malla de polietileno color negra que permitió 50 % de sombra, en el área experimental de la sede Villa Corzo, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas en Villa Corzo, Chiapas, México, ubicada a los 16°09'45,6" N, 93°16'40,3" O, a 600 msnm.

### Material vegetal

Se utilizaron semillas de café (*C. arabica*) de la variedad Costa Rica 95, resistente a roya, provenientes de un distribuidor de la región, con un 95 % de pureza.

### Diseño experimental

Se diseñó un experimento completamente al azar con arreglo factorial, con 24 tratamientos y 20 repeticiones. El factor A estuvo compuesto por seis niveles, correspondiente a las concentraciones de ácido salicílico (0; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 y 1 mM), y un testigo en agua destilada considerado como 0 mM). El factor B, con cuatro niveles, lo conformaron los tiempos de imbibición de las semillas en ácido salicílico (1, 2, 3, 4 horas).

### Concentraciones de ácido salicílico

La preparación de las concentraciones de AS se realizó tomando como referencia su masa molar. A partir de una solución madre de 1 M, se realizaron

Corzo, Chiapas, located at 16 ° 09'45.6" N, 93 ° 16'40.3" W, 600 meters above sea level.

### Vegetal material

Coffee seeds (*C. arabica*) of Costa Rica 95 variety were used, which are resistant to rust and have a 95 % of purity from a distributor in the region.

### Experimental design

A randomized experiment with a factorial arrangement was designed integrated for 24 treatments and 20 repetitions. The A factor was composed of six levels, corresponding to the concentrations of salicylic acid (0; 0.0125; 0.025; 0.05; 0.1 and 1 mM) and a control in distilled water considered as 0 Mm. The B factor, with four levels, formed by the imbibition times of the seeds in salicylic acid (1, 2, 3, 4 hours).

### Salicylic acid concentrations

The AS concentrations was prepared with their molar mass as reference. From a 1 M of stock solution, the respective dilutions were realized to five concentrations (0.0125; 0.025; 0.05; 0.1 and 1mM). Subsequently, 20 seeds without parchment (endocarp) were placed into the 50 mL beakers, with 40 mL of each solution. The control was imbibed in distilled water with the same volume and were left in each solution according to the imbibition times studied (1, 2, 3 and 4 h). Then, the seeds were removed and left on filter paper for 15 minutes at room temperature to remove excess SA and sow them. The sowing was carried out in plastic trays with 64 alveoli on a substrate composed of 85 % Peat Moss (*Sphagnum* moss) and 15 % pumice.

las respectivas diluciones hasta lograr las cinco concentraciones (0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 y 1 mM). Posteriormente, se colocaron 20 semillas sin pergamino (endocarpio) en vasos de precipitados de 50 mL, con 40 mL de cada solución. El testigo se embebió en agua destilada con el mismo volumen y se dejaron en cada solución de acuerdo a los tiempos de imbibición estudiados (1, 2, 3 y 4 h). Seguidamente, se sacaron las semillas y se dejaron en papel filtro por 15 minutos a temperatura ambiente para eliminar el exceso de AS y sembrarlas inmediatamente. La siembra se realizó en charolas de plástico de 64 alveolos sobre un sustrato compuesto por un 85 % de Peat Moss (musgo *Sphagnum*) y 15 % de piedra pómez (pumita).

Una vez sembradas las semillas, se hicieron riegos diarios con 80 mL de agua destilada por alveolo. La siembra se realizó el 01 de febrero del 2018.

#### Variables y muestreos

Al inicio de la germinación (32 días después de la siembra) se contaron las semillas germinadas por tratamientos cada dos días y se calculó el porcentaje de germinación (PG) y la tasa de germinación (TG) (días), con la fórmula  $TG = (\sum_{nt}) / (\sum_n)$ , donde n es el número de semillas germinadas en el tiempo, t es el número de días transcurridos para la germinación (Matthews y Khajeh-Hosseini, 2007), además con los registros de los porcentajes de germinación, se analizó la dinámica de germinación por efecto de los tratamientos de AS aplicados.

A partir de la aparición de las hojas cotiledonales (fase de mariposa), a todas las plántulas de cada tratamiento, se les midió el diámetro (mm) en la base del

Once the seeds were sown, they were irrigated daily with 80 mL of water distilled by alveolus. The sowing was done on February 1, 2018.

#### Variables and samples

At the beginning of germination (32 days after sowing) the seeds germinated by treatments were counted every two days. The percentage of germination (PG) and the germination rate (TG) (days) were calculated, with the formula  $TG = (\sum_{nt}) / (\sum_n)$ , where n is the number of seeds germinated over time, t is the number of days elapsed for germination (Matthews and Khajeh-Hosseini, 2007). In addition to record the percentages of germination, the germination dynamics were analyzed by the effect of the AS treatments applied.

From the appearance of the cotyledonal leaves (butterfly phase), for all the seedlings of each treatment, the diameter (mm) at the base of the hypocotyl was measured with a Vernier (Pretul Calibrator VER-6P) and the height of the hypocotyl from the neck to the insertion point of the cotyledonal leaves, with a ruler.

#### Statistical analysis

The data were processed through a bifactorial analysis of variance, after comparing the homogeneity of variances through the Bartlett test (Snedecor and Cochran, 1989). The comparison of means was performed through the Minimum Significant Difference test (MSD) for a probability error of  $p \leq 0.05$ . The analyzes were executed with Statistica 8.0 software (StatSoft, 2008).

hipocótilo con un Vernier (Calibrador Pretul VER-6P) y la altura del hipocótilo desde el cuello hasta el punto de inserción de las hojas cotiledonales, con una regla milimetrada.

### **Análisis estadístico**

Los datos se procesaron a través de un análisis de varianza bifactorial, previa comparación de la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Bartlett (Snedecor y Cochran, 1989). La comparación de medias se realizó a través de la prueba de la Mínima Diferencia Significativa (MDS) para una probabilidad de error  $p \leq 0,05$ . Los análisis se realizaron con el software Statistica 8.0 (StatSoft, 2008).

## **Resultados y discusión**

### **Porcentaje de germinación**

No se observaron diferencias estadísticas significativas entre las interacciones de las concentraciones y tiempos de imbibición del AS sobre la germinación ( $p=0,63$ ) (figura 1), pero si hubo diferencias significativas ( $p=0,00$ ) dentro de los factores individuales (figura 2).

El mayor porcentaje de germinación (31,25 %) se registró en el tratamiento con AS a una concentración de 0,0125 mM, siendo estadísticamente diferente que el testigo sin AS (17,5 %). Los tratamientos con una concentración de 0,025 mM y 0,05 mM de AS tuvieron una germinación de 22,5 % y 25 %, respectivamente, siendo iguales estadísticamente al tratamiento testigo (figura 2A), mientras que las concentraciones de AS de 0,1 mM y 1 Mm mostraron un efecto inhibitorio al inicio de la germinación.

## **Results and discussion**

### **Germination percentage**

There weren't observe significant statistical differences between the interactions of SA concentrations and imbibition times on germination ( $p=0.63$ ) (figure 1). However, were showed significant differences ( $p=0.00$ ) within the individual factors. (figure 2).

The highest germination percentage (31.25 %) was registered in the treatment with SA at a concentration of 0.0125 mM, being statistically different from the control without AS (17.5 %). The treatments with a concentration of 0.025 mM and 0.05 mM of AS had a germination of 22.5 % and 25 %, respectively, being statistically equal to the control treatment (figure 2A), while the concentrations of AS of 0.1 mM and 1 Mm showed an inhibitory effect at the beginning of germination.

Regarding the imbibition times, the seeds submerged for 4 h in AS had the highest germination percentage (25 %), being statistically the same as the treatment at 3 h of imbibition (20.8 %). Treatments with 1 and 2 hours of AS imbibition presented the lowest germination percentages (9 % and 13 %) (figure 2B).

These results corroborate that AS influences the germination of coffee tree seeds and this effect depends on the concentration and the time of exposure of the seeds to this substance. In this regard, there are reports that indicate that AS also has an inhibitory effect, depending on the concentration and the plant species. For example, germination was inhibited in barley



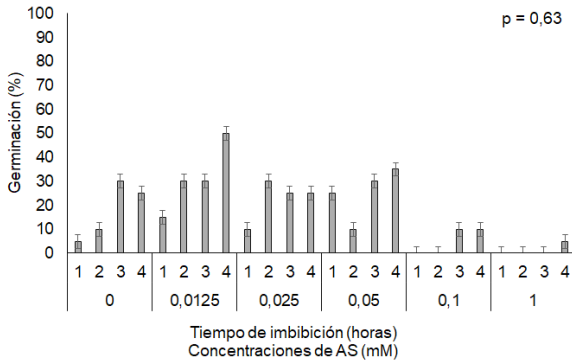


Figura 1. Efecto de las concentraciones y tiempos de imbibición de ácido salicílico sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95 a 32 días después de la siembra.

Figure 1. Concentrations and imbibition times effect of AS on the germination percentage of *Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95 at 32 days after sowing.

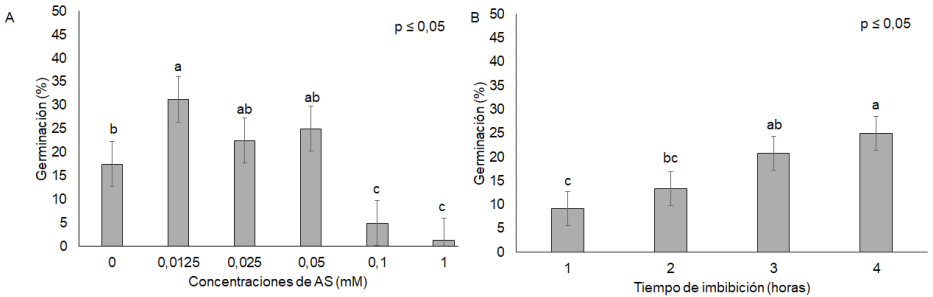


Figura 2. Efecto de las concentraciones (A) y tiempos de imbibición de ácido salicílico (B) sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Coffea arabica* (L.) var Costa Rica 95.

Figure 2. Concentrations (A) and imbibition times (B) effect of salicylic acid on the percentage of germination seeds of *Coffea arabica* (L.) var Costa Rica 95.

En cuanto a los tiempos de imbibición, las semillas sumergidas durante 4 h en AS presentaron el mayor porcentaje de germinación (25 %) siendo igual estadísticamente que el tratamiento a 3 h de imbibición (20,8 %). Los tratamientos con 1 y 2 horas de imbibición de AS presentaron los menores porcentajes de germinación (9 % y 13 %) (figura 2B).

Estos resultados corroboran que el AS influye en la germinación de semillas de cafetos y este efecto depende de la concentración y del tiempo de exposición de las semillas a esta sustancia. Al respecto, existen reportes que indican que el AS también tiene un efecto inhibitorio, en dependencia de la concentración y la especie vegetal. Por ejemplo, en semillas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) tratadas con concentraciones de AS mayores de 0,25 mM se inhibió la germinación. Se demostró que el AS inhibió la inducción de giberelina en la producción de las  $\alpha$ -amilasas en las células de aleurona de cebada (Xie *et al.*, 2007). En un estudio con seis variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sometidas a una temperatura de 15 °C, la aplicación de concentraciones de AS de 0,1 mM incrementó el porcentaje de germinación al menos en una variedad. Además, se registró un incremento de la relación del ácido giberélico ( $GA_3$ ) y ácido abscísico (ABA). Este equilibrio entre las cantidades relativas de  $GA_3$  y ABA endógenas en las semillas y la sensibilidad de sus tejidos a estas hormonas regularon la germinación de las semillas (Gharib y Hegazi, 2010), de ahí que se establece que durante la

seeds (*Hordeum vulgare* L.) treated with AS concentrations greater than 0.25 mM. AS showed to inhibit the induction of gibberellin in the production of  $\alpha$ -amylases in barley aleurone cells (Xie *et al.*, 2007). In a study, with six bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a temperature of 15 °C, the application of concentrations of AS of 0.1 mM increased the germination percentage in at least one variety. In addition, an increase in the ratio of gibberellic acid ( $GA_3$ ) and abscisic acid (ABA) was recorded. This balance between the relative amounts of endogenous  $GA_3$  and ABA in the seeds and the sensitivity of their tissues to these hormones regulated the germination of the seeds (Gharib and Hegazi, 2010), hence it is established that during the early stage of development of seedlings a complex interaction between AS, ABA and  $GA_3$  determines the result of germination (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011).

In an experiment with cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) treated with AS at concentrations of 0.01; 0.05; 0.1 and 0.5 mM, with and without nitrogen nutrition, the results showed that the 0.5 mM concentration obtained the highest percentage of germination, being better in the absence of nitrogen (Singh *et al.*, 2010).

AS has shown to induce various responses depending on the applied concentration and fairly high concentrations that are required to observe the effects (Métraux *et al.*, 1990). In all cases, the first observed effect was a delay in seed germination

etapa temprana de desarrollo de las plántulas una interacción compleja entre AS, ABA y GA<sub>3</sub> determina el resultado de la germinación (Rivas-San Vicente y Plasencia, 2011).

En un experimento con semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) tratadas con AS a concentraciones de 0,01; 0,05; 0,1 y 0,5 mM, con y sin nutrición nitrogenada, los resultados demostraron que la concentración 0,5 mM obtuvo el más alto porcentaje de germinación, siendo mejor en ausencia de nitrógeno (Singh *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que el AS induce varias respuestas dependiendo de la concentración aplicada y se requieren concentraciones bastante altas para observar los efectos (Métraux *et al.*, 1990). En todos los casos, el primer efecto observado fue un retraso en la germinación de la semilla por encima de una concentración de 1 mM y el proceso de germinación de la semilla se afectó significativamente (Rajjou, 2006). Se han reportado resultados similares para la germinación de embriones de maíz (*Zea mays* L.), para los cuales altas dosis de AS, en el rango de 3 a 5 mM, inhibieron completamente la germinación (Guan y Scandalios, 1995). Sin embargo, se observa que, a concentraciones inferiores a 1 mM, el AS no afectó la velocidad, homogeneidad y el grado final de germinación de *Arabidopsis*. Por encima de una concentración de 0,5 mM, este compuesto implicaba un fuerte retraso del crecimiento y las plantas parecían blanqueadas, presumiblemente porque a altas concentraciones el AS indujo un estrés oxidativo (Rao *et al.*, 1997).

above a concentration of 1 mM and the seed germination process was significantly affected (Rajjou, 2006). Similar results have been reported for the germination of corn embryos (*Zea mays* L.), for which high doses of AS, in the range of 3 to 5 mM, completely inhibited germination (Guan and Scandalios, 1995). However, the AS did not affect the speed, homogeneity and the final degree of germination of *Arabidopsis* at concentrations below 1 mM. Above a concentration of 0.5 mM, this compound involved strong growth retardation and the plants appeared bleached because at high concentrations AS induced oxidative stress (Rao *et al.*, 1997).

Rajjou (2006), found that during the first eight hours of imbibition of AS at concentrations of 0.1; 0.25; 0.5; 0.75; one; 2.5 and 5 mM in *Arabidopsis* seeds, increased de novo synthesis of proteins normally accumulated during seed maturation and which are under ABA control. That explains, the delay in the germination of *Arabidopsis* seeds observed in the presence from AS and this coincides with the inhibitory effect on the germination of coffee seeds caused by the treatment with 1 mM found in this investigation.

### Germination rate

The best seed germination rate was recorded in the AS concentration of 0.0125 Mm at 35.4 days and reached 77.5 % of germination, compared to the control, which had an average value of 39 days with a 67.5 % germination percentage (figure 3A).

### Germination percentage dynamics

Between 32 and 42 days more than 80% of germination was reached,

Por su parte, Rajjou (2006), encontró que durante las primeras ocho horas de imbibición de AS a concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2,5 y 5 mM en semillas de *Arabidopsis*, aumentó la síntesis de *novo* de las proteínas normalmente acumuladas durante la maduración de la semilla y que están bajo control de ABA, lo que explicaría el retraso en la germinación de semillas de *Arabidopsis* observado en presencia de AS; esto coincide con el efecto inhibitorio sobre la germinación de semillas de café provocado por el tratamiento con 1 mM encontrado en esta investigación.

### Tasa de germinación

La mejor tasa de germinación de semillas se registró en la concentración de 0,0125 mM de AS a los 35,4 días y alcanzó el 77,5 % de germinación, en comparación con el testigo, en el cual se observó un valor promedio de 39 días con un porcentaje de 67,5 % de germinación (figura 3A).

### Dinámica del porcentaje de germinación

Entre los 32 y 42 días se alcanzó más del 80 % de germinación, después de ese lapso de tiempo los tratamientos no mostraron diferencias significativas (figura 3B), en este periodo los tratamientos 0,0125; 0,025; y 0,05 mM fueron mejores (22 - 81 %) que el testigo (17 - 75 %). Entre los 36 y 42 días, todos los tratamientos con AS tuvieron valores más altos (66 - 87 %) que el testigo (53 - 75 %), reafirmando el rol estimulador que tienen estas concentraciones en la germinación de las semillas de cafetos. El efecto positivo del AS en la germinación depende, entre

after that time the treatments did not show significant differences (figure 3B), in this period the treatments 0.0125; 0.025; and 0.05 mM were better (22 - 81 %) than the control (17 - 75 %). Between 36 and 42 days, all AS treatments had higher values (66 - 87 %) than the control (53 - 75 %), reaffirming the stimulating role that these concentrations have in the germination of coffee tree seeds. The positive effect of AS on germination depends, among other factors, on the species and the applied concentration. The bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.), treated with AS, presented a higher percentage of germination in concentrations of 0.01 mM at one hour (95.8 %) and three hours of imbibition (85 %), but an inhibitory effect on germination was observed with concentrations of 0.05 mM and 0.1 mM when they had higher exposure of the AS (from 2 to 4 h) (Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017). On the other hand, in dill seeds (*Anethum graveolens* L.) treated with AS (100 mg.L<sup>-1</sup>), the increase in germination percentage was of 12% compared to seeds without AS (Espanany and Fallah, 2016).

### Hypocotyl length and diameter

At the time of measurement, all seedlings of all treatments presented a normal appearance. A significant effect of the concentration factor of the AS on the length and diameter of the hypocotyl was observed, but not between the interaction of the concentration and the immersion time of the AS. The concentrations 0.0125 and 0.025 mM were better, forming longer hypocotyls, between 3 and 5

otros factores, de la especie y la concentración aplicada. En semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), tratadas con AS, se observó mayor porcentaje de germinación en concentraciones de 0,01 mM a una hora (95,8 %) y tres horas de imbibición (85 %), pero se observó un efecto inhibitorio en la germinación con las concentraciones 0,05 mM y 0,1 mM cuando tuvieron mayor exposición del AS (de 2 a 4 h) (Rodríguez-Larramendi *et al.*, 2017). Por su parte, en semillas de eneldo (*Anethum graveolens* L.) tratadas con AS (100 mg.L<sup>-1</sup>), se observó un aumento en el porcentaje de germinación en 12 % comparadas con las semillas sin AS (Espanany y Fallah, 2016).

mm more compared to the control. The concentration of 1 mM caused shorter hypocotyls (42 mm), as did the control. The diameter of the hypocotyl was greater in the concentrations with AS, with the concentration of 1 mM producing the highest value (2.22 mm). When the seeds were exposed to an AS concentration of 1 mM, the seedlings showed shorter hypocotyls, but with a larger diameter (figure 4).

The effect of AS on plant stem growth has been documented. The Cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) that were pre-treated with AS concentrations of 0.07; 0.18 and 0.29 mM presented stems thicker than the control (distilled water) where

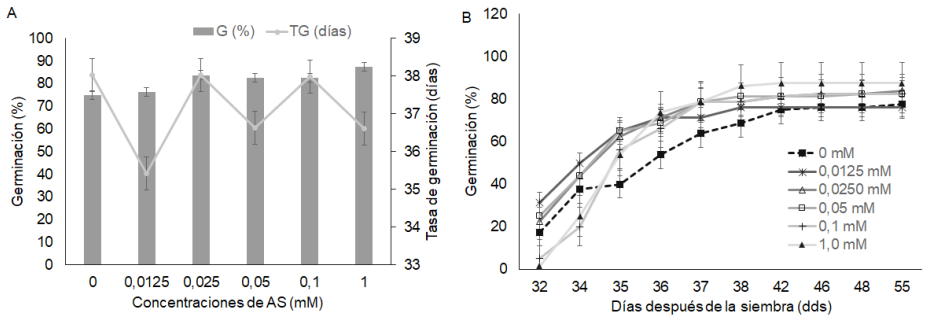


Figura 3. Porcentaje de germinación (G) y tasa germinación (TG) a los 32 dds (A), dinámica del porcentaje de germinación (B) de semillas de *Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95 embebidas en ácido salicílico.

Figure 3. Germination percentage (G) and germination rate (TG) at 32 dds (A), dynamics of the germination percentage (B) of *Coffea arabica* L. var. Costa Rica 95 soaked in salicylic acid.

### Longitud y diámetro del hipocótilo

Al momento de la medición, todas las plántulas de todos los tratamientos presentaron una apariencia normal.

AS concentrations at 0.07 and 0.18 mM had better results (Sadoun and Mohamed, 2016). Similar results were obtained by Rodríguez-Larramendi *et al.* (2017) in bean cultivation

Se observó un efecto significativo del factor concentración del AS sobre la longitud y el diámetro del hipocótilo, no así entre la interacción de la concentración y tiempo de inmersión del AS. Las concentraciones 0,0125 y 0,025 mM fueron mejores que el testigo, formando hipocótilos más largos, entre 3 y 5 mm más que el testigo. La concentración de 1 mM originó hipocótilos más cortos (42 mm), al igual que el testigo. El diámetro del hipocótilo fue mayor en las concentraciones con AS, siendo la concentración de 1 mM la que produjo el mayor valor (2,22 mm). Cuando las semillas se expusieron a una concentración de AS de 1 mM, las plántulas mostraron hipocótilos más cortos, pero de mayor diámetro (figura 4).

(*Phaseolus vulgaris* L.), who found that imbibition of bean seeds with AS at a concentration of 0.01 mM increased stem length. On the other hand, Hayat *et al.* (2005), demonstrated that wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) increased the number of leaves, fresh and dry weight, when the seeds were soaked at a AS concentration of 0.01 mM. In these seedlings there was greater activity of nitrate reductase and carbonic anhydrase, which allowed us to evaluate the assimilation of nitrogen and carbon. In the cultivation of papaya (*Carica papaya* L.) Hayat *et al.* (2013), found that AS concentrations at 0.0001; 0.01 and 1.0  $\mu\text{mol}$  increased the height a 10 % and the stem diameter a 3.5 %.

Rivas-San Vicente and Plasencia (2011), mention that AS in coordination

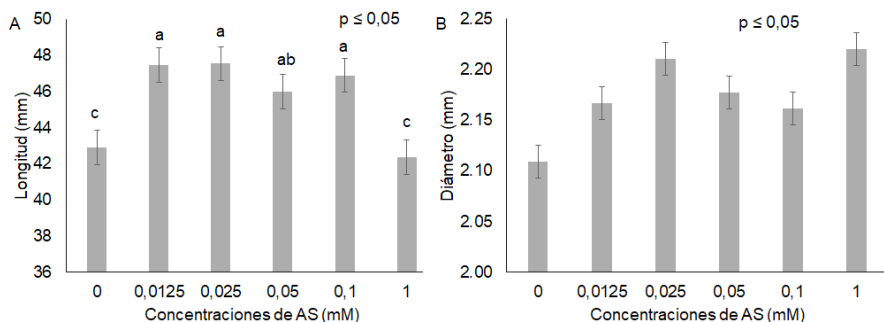


Figura 4. Efecto de la imbibición de concentraciones de ácido salicílico en semillas de *Coffea arabica* L., sobre la longitud y diámetro del hipocótilo.

Figure 4. Imbibition effect of salicylic acid concentrations in *Coffea arabica* L. seeds, on the length and diameter of the hypocotyl.

El efecto del AS en el crecimiento del tallo de plantas ha sido documentado. Semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) que fueron pre-

with cytokines, ethylene, gibberellins, auxins and jasmonic acid contributes significantly to the regulation of plant growth and development, although

tratadas en concentraciones de 0,07; 0,18 y 0,29 mM de AS, dieron como resultado tallos más gruesos que el testigo (agua destilada) donde las concentraciones de AS de 0,07 y 0,18 mM presentaron mejores resultados (Sadoun y Mohamed, 2016). Resultados similares obtuvieron Rodríguez-Larramendi *et al.* (2017) en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), quienes encontraron que la imbibición de semillas de frijol con AS a una concentración de 0,01 mM incrementó la longitud del vástago; por otra parte, Hayat *et al.* (2005), demostraron que las plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) aumentaron el número de hojas, peso fresco y seco, cuando las semillas fueron remojadas en una concentración de AS de 0,01 mM. En estas plántulas hubo mayor actividad de la nitrato reductasa y de la anhidrasa carbónica, lo que permitió evaluar la asimilación del nitrógeno y del carbono. En el cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) Hayat *et al.* (2013), encontraron que concentraciones de AS a 0,0001; 0,01 y 1,0  $\mu\text{mol}$ , aumentaron en 10 % la altura y en 3,5 % el diámetro del tallo.

Rivas-San Vicente y Plasencia (2011), mencionan que el AS en coordinación con las citokininas, el etileno, las giberelinas, las auxinas y el ácido jasmónico contribuye de manera importante a la regulación del crecimiento y del desarrollo de las plantas, aunque los mecanismos bioquímicos que median la mayoría de estas respuestas siguen siendo en gran medida desconocidos.

the Biochemical mechanisms that mediate most of these responses remain largely unknown.

## Conclusions

Salicylic acid causes an acceleration and increase in the percentage of germination of coffee seeds in concentrations of 0.0125; 0.025 and 0.05 mM, with imbibition times of 3 and 4 hours, due to the participation of salicylic acid in the regulation of the concentrations of the hormones involved in seed germination. Furthermore, they stimulated the growth of hypocotyls, being longer and thicker than the control. These findings show that salicylic acid applied in low concentrations can be used to improve the germination of coffee seeds and induce the initial growth of coffee seedlings and it could be considered a viable option for coffee growers as its easy application as a safety product.

### End of English Version

## Conclusiones

El ácido salicílico provoca una aceleración y aumento en el porcentaje de germinación de semillas de café en concentraciones de 0,0125; 0,025 y 0,05 mM, con tiempos de imbibición de 3 y 4 horas debido probablemente a la participación del ácido salicílico en la regulación de las concentraciones de las hormonas que participan en la germinación de las semillas. Además, estimularon el crecimiento

de hipocótilos, siendo más largos y gruesos que el testigo. Estos hallazgos demuestran que el ácido salicílico aplicado en bajas concentraciones puede ser utilizado para mejorar la germinación de semillas de café e inducir el crecimiento inicial de plántulas de cafetos, al tiempo que pudiera considerarse como una opción viable para los productores cafetaleros, tanto por su fácil aplicación como la inocuidad del producto.

### Literatura citada

- Anaya, A.M. de L., R. Jarquín Gálvez, C. Hernández-Ramos, M. S. Figueroa y T. Monreal-Vargas. 2011. Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. *Rev. Mex. de Cien. Agríc.*2(3): 417–431.
- Bandurska, H. y A. S. Ski. 2005. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Act. Phy. Plant.* 27(3): 379–386. Available in: <https://doi.org/10.1007/s11738-005-0015-5>
- Barskosky, R. R. y F. A. Einhellig. 1993. Effects of salicylic acid on plant-water relationships. *Jour. Biol.Chem.* 19(2): 11.
- Castiaux, M., K. Crossman, M. Jurjonas y R. L. Mondragón. 2014. Diagnóstico participativo para la planeación de la producción de café en la microcuenca la Suiza de Chiapas, México. Colegio de Frontera Sur-Universidad Estatal de Colorado. 418 p.
- Cleland, C. F. y O. Tanaka. 1979. Effect of Daylength on the Ability of Salicylic Acid to Induce Flowering in the Long-day Plant *Lemna gibba* G3 and the Short-day Plant *Lemna paucicostata* 6746. *Plant Phys.* 64(3): 421–424. Available in: <https://doi.org/10.1104/pp.64.3.421>
- Cruz-Castillo, J. G., D. Elías-Román, A. De los Santos-Nen y P. A. Torres-Lima. 1999. Aplicaciones de CPPU (Citocinina) incrementan el crecimiento del café en vivero. *Rev. Chap. S. Hort.* 5(1): 59–62.
- Echevarría-Machado, I., R. M. Rosa y A. Larqué-Saavedra. 2007. Responses of transformed *Catharanthus roseus* roots to femtomolar concentrations of salicylic acid. *Plant Phys. and Bioch.*45(6–7): 501–507. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.04.003>
- Espanany, A. y S. Fallah. 2016. Seed germination of dill (*Anethum graveolens* L.) in response to salicylic acid and haloprimum under cadmium stress. *Iranian Journal of Plant Physiology.* 6(3): 1701–1713. Available in: doi: 10.22034/ijpp.2016.532675.
- Gharib, F. A. y A. Z. Hegazi. 2010. Salicylic Acid Ameliorates Germination, Seedling Growth, Phytohormone and Enzymes Activity in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under Cold Stress. *Jour. Amer. Scien.* 6(10): 675–683.
- Guan L. y J. G. Scandalios. 1995. Developmentally related responses of maize catalase genes to salicylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92 (13):5930–5934. Available in: <doi.org/10.1073/pnas.92.13.5930>.
- Hayat, S., Q. Fariduddin, B. Ali y A. Ahmad. 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. *Acta Agronomica Hungarica,* 53(4): 433–437. Available in: <https://doi.org/10.1556/AAgr.53.2005.4.9>.
- Hayat, S., A. Ahmad y M. N. Alyemeni. 2013. Salicylic Acid, Plant Growth and Development. New York London. 395 p. Available in: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-6428-6>
- Korkmaz, A., M. Uzunlu y A. R. Demirkiran. 2007. Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Act. Phys. Plant.* 29 (6): 503–508. Available in: <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0060-3>
- Larqué-Saavedra, A. 1978. The Antitranspirant Effect of Acetylsalicylic Acid on *Phaseolus vulgaris*. *Phys. Plant.* 43(2): 126–128. Available in: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1978.tb01579.x>



- Manthe, B., M. Schulz y H. Schnabl. 1992. Effects of salicylic acid on growth and stomatal movements of *Vicia faba* L.: Evidence for salicylic acid metabolism. *Jour. Chem. Ecol.* 18(9): 1525–1539. Available in: <https://doi.org/10.1007/BF00993226>
- Matthews, S. y Khajeh-Hosseini, M. 2007. Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize (*Zea mays*). *S. Scien. Tech.* 35(1): 200–212. Available in: <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.18>
- Métraux, J. P., H. Signer, J. Ryals, E. Ward, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmid, W. Blum y B. Inverardi. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science.* 250(8): 8–10.
- Nazar, R., N. Iqbal y N. A. Khan. 2017. Salicylic acid: A multifaceted hormone. *Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone.* Springer. Singapore. 243 p. Available in: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6068-7>
- Rajjou, L. 2006. Proteomic Investigation of the Effect of Salicylic Acid on Arabidopsis Seed Germination and Establishment of Early Defense Mechanisms. *P. Phys.* 141(3): 910–923.
- Rao M.V., G. Paliyath, D. P. Ormrod, D. P. Murr y C. B. Watkins. 1997. Influence of salicylic acid on  $H_2O_2$  production, oxidative stress, and  $H_2O_2$ -metabolizing enzymes: salicylic acid-mediated oxidative damage requires  $H_2O_2$ . *Plant Phys.* 115:137–149.
- Rivas-San Vicente, M. y J. Plasencia. 2011. Salicylic acid beyond defence: Its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany.* 62(10): 3321–3338. Available in: <https://doi.org/10.1093/jxb/err031>
- Rodríguez-Larramendi, L., M. González-Ramírez, M. Gómez-Rincón, F. Guevara-Hernández, M. A. Salas-Marina y A. Gordillo-Curiel. 2017. Efectos del ácido salicílico en la germinación y crecimiento inicial de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 34(3): 253–269.
- Sadeghian-Khalajabadi, S. y H. González Osorio. 2014. Respuesta del café (*Coffea arabica* L.) a fuentes y dosis de nitrógeno en la etapa de almácigo. *Cenicafé* 65(1): 34–43.
- Sadeghian, S. y R. D. Zapata. 2015. Growth of coffee (*Coffea arabica* L.) During nursery's stage in response to the salinity generated by fertilizers. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(2): 40–50.
- Sadoun M., E. S. y F. M. Mohamed. 2016. Growth and Yield of Cucumber Plants Derived from Seeds pretreated with Salicylic Acid. *Jour. Biol.Chem.* 11(1): 541–561.
- Shakirova, F. M. 2007. Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and antistress action of salicylic acid. *Salicylic Acid: A Plant Hormone.* 69–89. Available in: <https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0>.
- Singh, P., A. Kumar, V. Chaturvedi y B. B. Bose. 2010. Effects of salicylic acid on seedling growth and nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) Nitrogen nutrition and role of salicylic acid effects of salicylic acid on seedling growth and nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Jour. Str. Phys. Bioch.* 6(3): 102–113.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran. 1989. *Statistical Methods*, Eighth Edition, Iowa State University Press. 507 p.
- StatSoft Inc. 2008. STATISTICA (Data Analysis Software System), version 8.0. Disponible en: <http://www.statsoft.com/>.
- Utria-Borges, E., V. Rodríguez-Oquendo, L. G. Moisés-Medina, J. O. Calderón-Agüero y F. Suárez-Soria. 2004. Respuesta de plántulas de caféto (*Coffea arabica* L.) a la aplicación de Brasinosteroides en diferentes concentraciones y etapas de su desarrollo. *Rev. Chap. S. Hort.* 10 (1): 11–14.
- Xie, Z., Z. L. Zhang, S. Hanzlik, E. Cook y Q. J. Shen. 2007. Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid-inducible WRKY gene. *Plant molecular biology*, 64(3), 293-303.