

Efecto de tratamientos físicos y químicos

sobre la germinación y almacenamiento de semillas de *Bactris guineensis* (L.) H.E. Moore, Costa Rica

Gabriel Bermúdez-Ruiz¹
Ramiro Alizaga-López²
Jorge Herrera-Quirós³

Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de tratamientos físicos y químicos sobre la germinación de la semilla de *Bactris guineensis* bajo condiciones controladas. Asimismo, se estudió el efecto del tiempo de almacenamiento. Se realizaron tres experimentos: 1) se evaluó el efecto de dos contenidos de humedad de almacenamiento (17 % y 19 %), cuatro tiempos de almacenamiento (cero, dos, cuatro y ocho meses) y tres tiempos de exposición en calor seco a 40 °C (cero, 15 y 30 días) sobre el porcentaje de germinación y la viabilidad de semillas. 2) Se evaluó el efecto del ácido giberélico (AG₃) en dos concentraciones (200 y 400 ppm) y cianamida hidrogenada (CH₂N₂) sobre la superación del reposo o latencia. 3) También se evaluó el efecto del tiempo de fermentación durante cero, 7,14 y 21 días en

Abstract

Effect of physical and chemical treatments on seed germination and storage of *Bactris guineensis* (L.) H.E. Moore, Costa Rica

The objective of this research was to evaluate the effect of physical and chemical treatments on the germination of *Bactris guineensis* seed under controlled conditions. The effect of storage time was also studied. Three experiments were performed: 1) the effect on the percentage of germination and the viability of seeds for two storage moisture contents (17 % and 19 %), with four storage times (zero, two, four and eight months) and three exposure times in dry heat at 40 °C (zero, 15 and 30 days). 2) The effect on overcoming latency after using gibberellic acid (AG₃) in two concentrations (200 and

1. Universidad Técnica Nacional; Guanacaste, Costa Rica; gebermudez@utn.ac.cr

2. Universidad de Costa Rica, Escuela de Agronomía; San José, Costa Rica; ramiro.alizaga@ucr.ac.cr

3. Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología; San José, Costa Rica; jorge.herrera@ucr.ac.cr

Recibido: 25/01/2017
Aceptado: 27/02/2017

combinación con la inmersión de las semillas en agua a punto de ebullición durante 0, 30, 75, 120 y 165 segundos. Se determinó que la viabilidad de las semillas se reduce significativamente conforme aumenta el tiempo de almacenamiento y con el mayor tiempo de exposición (30 días) a calor seco. Además, la viabilidad de la semilla se conservó mejor cuando la humedad de almacenamiento fue de 17 %. El uso de ácido giberélico (AG_3) no aumentó la germinación y no afectó la viabilidad de las semillas. Por el contrario, la inmersión en cianamida hidrogenada (CH_2N_2) al 2 % por 24 horas no estimuló la germinación, pero no afectó la viabilidad durante el almacenamiento, mientras que la inmersión por 48 horas causó la muerte del 100 % de las semillas después de cuatro meses de almacenamiento. En conclusión, la eliminación del opérculo facilitó la germinación de las semillas (42 % en semilla fermentada por siete días).

Palabras clave: *Arecaceae*, *Bactris guineensis*, almacenamiento, germinación, manejo de semillas, opérculo, Costa Rica.

Introducción

Bactris guineensis conocida como uva de monte, es una especie de palma (*Arecaceae*), distribuida geográficamente desde Nicaragua hasta Colombia y Venezuela. En el caso particular de Costa Rica se encuentra en los bosques secos y de transición a húmedos de 0 a 150 msnm (Henderson, 2000). Sus frutos son de 1,2 – 2,5 cm de largo, obovados, púrpura rojiza a negro púrpura al madurar con una sola semilla (Chízar, 2009) y se recolectan de las plantas que crecen en forma silvestre.

En los últimos años se ha intensificado la cantidad de estudios que demuestran el uso potencial y las propiedades benéficas del consumo de frutos de uva de monte. (Zapata, 2010) concluyó que la uva de monte es una fruta con actividad antioxidante alta debido a que contiene polifenoles, especialmente de antocianinas. Estas propiedades ayudan a prevenir enfermedades crónicas, cáncer, inflamaciones, envejecimiento prematuro, entre otras (Pérez, 2009).

Por su parte, Osorio, Carriazo y Ovidio (2011) sugieren que los extractos ricos en antocianinas de frutos de *B. guineensis* es un material antioxidante prometedor, con uso potencial para la industria alimenticia. Osorio, Acevedo, Hillebrand, Carriazo, Winterhalter y Morales (2010), obtuvieron que las antocianinas de *B. guineensis* muestran estabilidad térmica, lo cual es una fuente valiosa de colorantes alimentarios naturales y recomiendan el cultivo extensivo para su aprovechamiento.

400 ppm) and hydrogenated cyanamide (CH_2N_2). 3) The effect of the fermentation time for zero, 7,14 and 21 days was also evaluated in combination with the immersion of seeds in water at boiling point for 0, 30, 75, 120 and 165 seconds. Seed viability was determined to be significantly reduced as the storage time increases and at a longer exposure time (30 days) to dry heat. In addition, seed viability was best conserved when storage moisture was 17 %. The use of gibberellic acid (AG_3) did not increase germination and did not affect the viability of the seeds. In contrast, immersion in 2 % hydrogenated cyanamide (CH_2N_2) during 24 hours did not stimulate germination, nor affected viability during storage, whereas immersion for 48 hours caused 100 % death of seeds after four months of storage. In conclusion, removal of the operculum facilitated seed germination (42 % in fermented seed for seven days).

Key words: *Arecaceae*, *Bactris guineensis*, storage, germination, seed management, operculum, Costa Rica

Adicionalmente, Belén, López, Barranco, García, Moreno y Linares (2004) señalan que la semilla de *B. guineensis* presenta el nivel de grasas requerido para la extracción de aceite; concluyendo que solo se requiere incentivar el cultivo sistematizado que garantice la disponibilidad de la materia prima para su extracción.

Sin embargo, a pesar de los beneficios que ofrece el consumo de antioxidantes y de la reciente preocupación de la industria de alimentos por incorporar estos compuestos (Pérez, 2009), la germinación de las semillas constituye un desafío para el establecimiento de ecosistemas plantados para producción comercial.

La germinación de semillas de palma en forma natural es sumamente lenta, errática y con bajo porcentaje (Maciel, 2001). Lo anterior, debido principalmente a aspectos fisiológicos, químicos y físicos que impiden una germinación rápida y homogénea y que pueden mantener las semillas viables hasta por más de dos años (Villalobos, Herrera y Guevara, 1992; Ortiz y Fernández, 1994). En el caso de *B. guineensis* no se encontró información sobre la ruptura del reposo de las semillas para estimular la germinación. Por esta razón se usó como referencia la experiencia desarrollada en la germinación y el almacenamiento de las especies *B. gasipaes*, *Elaeis guineensis* y otras especies de palma.

Diversos estudios (Villalobos, Herrera y Guevara 1992; Herrera y Alvarado, 2012; Mora-Aguilar, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí y Ramírez-Lazo, 2003) mencionan que, para asegurar su reproducción y supervivencia, las semillas han desarrollado un reposo o latencia que

permite una germinación escalonada en el tiempo, mediante estrategias como inmadurez del embrión, impermeabilidad a gases o al agua o presencia de inhibidores de la germinación. Lo anterior representa una desventaja en la propagación comercial de los cultivos de palma (Murugesan, 2005). Por su parte, las especies que aún exhiben algún tipo de letargo impactan negativamente sobre el cultivo y la producción de semillas y complica la evaluación de su calidad (Geneve, 1998).

Ahora bien, los métodos utilizados para inducir la ruptura del estado de reposo pueden ser físicos como el uso de alta o baja temperatura, o químicos que generalmente involucran el uso de reguladores de crecimiento como las giberelinas (AG₃) (Mora-Aguilar et al., 2003), las citoquininas, el etileno y las cianamida hidrogenada (CH₂N₂) (Villalobos, Herrera y Guevara, 1992). En el caso de *B. gasipaes* son pocos los trabajos específicos sobre el manejo de la semilla citados en la literatura (Villalobos y Herrera, 1991) mientras que en palma de aceite es un fenómeno bien estudiado (Surre, 1969) en cuanto a la respuesta a altas temperaturas y uso de reguladores de crecimiento.

Adicionalmente, las semillas de palma de aceite son sensibles a la desecación o disminución en el contenido de humedad y al almacenamiento en temperaturas menores de 15 °C, perdiendo rápidamente la viabilidad (Herrera y Alvarado, 2012). Por su parte, Hartley (1983) menciona que esta especie requiere condiciones específicas de temperatura, contenido de humedad y de suministro de oxígeno para una germinación satisfactoria.

Las semillas de varias especies de palma deben almacenarse durante varios años para germinar, aunque tal período puede reducirse a sólo tres meses si la temperatura y la humedad de almacenamiento son elevadas (38 a 40 °C y 85 a 100 % de HR) (Jones, 1995). Desafortunadamente, solo se tiene información detallada sobre las condiciones adecuadas de almacenamiento para 102 especies de palma (aproximadamente el 5 % de la familia) (Ceballos González, Calvo Irabién y Pérez, 2005) y de esta fracción, solo una cuarta parte presenta semillas que permanecen viables bajo condiciones convencionales de almacenamiento (Wood y Pritchard, 2003).

El objetivo fue evaluar el efecto de tratamientos físicos, químicos y del almacenamiento sobre la germinación y la viabilidad de las semillas bajo condiciones controladas.

Material y Métodos

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Semillas del Centro de Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica. Se recolectaron frutos de uva de monte en mayo de 2010 en el cantón de Cañas,

en un radio de 500 m de la coordenada geográfica 10°27'36,66" Latitud Norte y 85°9'6,58" Longitud Oeste.

Selección de frutos y despulpado de semillas

Se colectó racimos con 100% de frutos maduros. Los frutos se separaron del racimo dos días después de la cosecha; luego de esto los frutos se maceraron manualmente y se separó el exocarpo de las demás estructuras.

A continuación, se procedió a realizar un despulpado químico con ácido sulfúrico al 50 % por un período de 90 segundos para liberar las semillas de la pulpa y evitar el ataque de patógenos; ya que se encuentra fuertemente adherida a la semilla, seguido por lavado en agua de cañería. Posteriormente, las semillas se colocaron en recipientes con una solución saturada de carbonato de calcio (CaCO₃) con el fin de neutralizar el ácido remanente en el endocarpio y se agitó por cinco minutos. A seguir se lavaron 10 veces con agua corriente. Finalmente, las semillas limpias se colocaron en bolsas de polietileno doble para evitar la pérdida de humedad y se almacenaron en una cámara a 20 °C por cinco días.

Prueba de contenido inicial de humedad (CIH) y contenido de humedad deseado

Se midió el contenido inicial de humedad de semillas previamente acondicionadas para el almacenamiento y de las semillas procedentes de frutos recién cosechados. Para esto los frutos se despulparon en un procesador de alimentos, luego se aplicó fricción con una manta para desprender el tejido fibroso adherido a la semilla y se dejaron secar al ambiente, hasta eliminar la humedad superficial. A seguir, se tomaron cuatro muestras de semillas al azar, se trituraron con un mortero metálico y se colocaron en cajas de aluminio tapadas para evitar la pérdida de humedad.

Las cajas se pesaron en una balanza analítica con una precisión de ±0.0001 g (Ph). El proceso de secado se realizó a 105 °C por 24 horas en un horno de convección forzada de aire; posteriormente las muestras se colocaron en un desecador con sílica gel hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesaron nuevamente (Ps). Se aplicó la siguiente fórmula para determinar el contenido de humedad:

$$H (\%) = (Ph - Ps) ph^{-1} \cdot 100$$

En donde:

H (%) es el porcentaje de humedad de la muestra en base húmeda.

Ph es el Peso húmedo de la muestra en gramos.

Ps es el Peso seco de la muestra en gramos.

El contenido de humedad deseado para las pruebas de almacenamiento se ajustó usando la siguiente fórmula:

$$Pf = Msi (\%) Msf(\%)^{-1} Pi$$

Donde:

Pf es el peso final después del secado o contenido de humedad deseado en gramos.

Pi es el peso de la muestra antes del secado al ambiente en gramos.

Msi (%) es el porcentaje de masa seca de la muestra antes del secado.

Msf (%) es el porcentaje de masa seca de la muestra después del secado.

Para determinar el peso medio por semilla, se usó tres repeticiones de 100 semillas al azar, para una muestra de 300 unidades.

Experimento 1. Tratamientos de humedad, tiempos de almacenamiento y exposición en calor seco

Se evaluó el efecto de dos contenidos de humedad de almacenamiento (17 % y 19 %), cuatro tiempos de almacenamiento (cero (testigo), dos, cuatro y ocho meses) y tres tiempos de exposición en calor seco a 40 °C (cero (testigo), 15 días y 30 días) sobre el porcentaje de germinación y la viabilidad de semillas de uva de monte.

Cada unidad experimental consistió de 50 semillas con tres repeticiones. Se utilizó un diseño irrestricto al azar en un arreglo factorial para el análisis de los resultados. Las variables evaluadas fueron porcentaje de plántulas normales, plántulas anormales y plántulas enfermas, semillas no germinadas y semillas muertas. Las evaluaciones se realizaron durante 14 meses, por su parte, la separación de la media se hizo con la prueba de LSD de Fisher para los siguientes experimentos.

Para almacenar las semillas, estas se empaquetaron en bolsas dobles de polietileno para evitar la pérdida de humedad y se colocaron en una cámara de almacenamiento a 20 °C. Respecto a los tratamientos que requerían exposición en calor seco se colocaron en bolsas dobles de polietileno cerradas y se introdujeron en una incubadora a 40 °C. Las semillas se airearon una vez por semana.

Previo a la siembra, las semillas de los diferentes tratamientos se imbibieron colocándolas en bolsas de tela y dentro de un recipiente con agua corriente por cinco días para favorecer la circulación de oxígeno. Seguidamente se realizó un enjuague con agua destilada y se pusieron a orear a temperatura ambiente hasta que perdieron su humedad superficial. Finalmente, cada unidad experimental se sumergió en una solución de fungicida, azoxistrobina difenaconazol (Amistar) al 3 % de concentración comercial (3 g l⁻¹), por tres minutos y se sembró en bandejas plásticas con turba como

sustrato para la germinación. Se realizaron evaluaciones mensuales durante 14 meses.

También se realizó una prueba de viabilidad con tetrazolio (2-3-4 trifenil tetrazolio), con el fin de comparar el porcentaje de viabilidad con el porcentaje de germinación; para esto se tomó una muestra al azar de tres y diez semillas por repetición a los cinco y 14 meses respectivamente. A las semillas remanentes que no lograron germinar después de 14 meses pero que conservaban una alta viabilidad, se les retiró el opérculo manualmente usando una pinza metálica y un agujón como tratamiento mecánico y se colocaron a germinar nuevamente en bandejas plásticas por cuatro meses más. Se usaron 30 semillas por repetición.

Experimento 2. Reguladores de crecimiento

Se evaluó el efecto de la inmersión por 24 y 48 horas en ácido giberélico (AG₃) en dos concentraciones (200 y 400 ppm) y en cianamida hidrogenada (CH₂N₂) al 2 % (producto comercial), sobre la germinación de semillas con un contenido de humedad de 19 %. Los tratamientos fueron T1 (200 AG₃ - 24 h), T2 (400 AG₃ - 24 h), T3 (200 AG₃ - 48 h), T4 (400 AG₃ - 48 h), T5 (CH₂N₂ -24 h), T6 (CH₂N₂ -48 h) y testigo (sin tratamiento químico). Luego de esto se realizó el proceso de imbibición y siembra descrito en el experimento 1. Seguidamente, se hicieron tres repeticiones de 50 semillas por tratamiento y evaluaciones mensuales durante 14 meses.

Por último, se realizó una prueba de viabilidad con tetrazolio (2-3-4 trifenil tetrazolio). Para esto se tomó una muestra al azar de tres y diez semillas por repetición a los cuatro y 14 meses respectivamente. A las semillas remanentes que no lograron germinar después de 14 meses se les retiró el opérculo manualmente y se colocaron a germinar nuevamente en bandejas plásticas por cuatro meses más. Se usaron 30 semillas por repetición.

Experimento 3. Tratamientos de fermentación e inmersión en agua caliente

Para realizar estos experimentos se mantuvieron frutos frescos en reposo por cinco días para facilitar la separación del exocarpo. Se realizaron tres repeticiones de 50 semillas por tratamiento. Se evaluó el efecto del tiempo de fermentación en agua destilada durante cero, 7, 14 y 21 días en combinación con la inmersión posterior de las semillas en agua a punto de ebullición (100 °C) durante 0, 30, 75, 120 y 165 segundos. Durante la fermentación el agua se cambió semanalmente.

Después de cada período de fermentación los frutos se colocaron en bolsas de tela y se sumergieron en agua al punto de ebullición según los tiempos establecidos en el diseño experimental. Cumplido el tiempo de inmersión se procedió a despulpar cada tratamiento con un procesador de alimentos. Las semillas despulpadas y limpias se sumergieron en una solución de azoxistrobina

difenaconazol (Amistar) al 3 % de producto comercial, se orearon al ambiente para eliminar la humedad superficial y finalmente se colocaron a germinar en bolsas plásticas en una cámara de germinación con temperatura alterna 12 horas a 20 ° C en oscuridad y 12 horas a 35 ° C con iluminación.

En vista que las semillas estuvieron almacenadas por un período de siete meses sin que germinaran, se realizó una prueba de viabilidad de semillas con tetrazolio; con tres semillas por repetición para valorar y decidir si se continuaba o no con el experimento.

Transcurridos 10 meses, el porcentaje de germinación era muy bajo, aunque la condición externa de las semillas remanentes sugería que permanecían viables (entre 82,5 % y 97,5 %), por lo que se procedió a retirar manualmente el opérculo con el fin de mejorar el porcentaje de germinación y se colocaron a germinar por cuatro meses más. Para este procedimiento de semillas sin opérculos, se usaron 30 semillas por repetición.

Resultados y discusión

Contenido de humedad (CIH)

Se determinó que las semillas recién cosechadas, presentan una humedad en base húmeda (bh) de 24,4 % (CV = 0,51 %), mientras que las semillas tratadas previamente con ácido sulfúrico y secadas durante 24 horas al ambiente presentaron una humedad de 20,1 % (CV = 1,16%), lo que representa una reducción de humedad de 4,3 %. Cabe comentar que después del período de imbibición de cinco días, requerido para colocar las semillas a germinar, estas alcanzaron una humedad interna promedio de 26,5 %. El peso promedio por semilla fue de 0,94 g (CV = 1,35 %), para la población en estudio.

Efecto de la humedad, tiempo de almacenamiento y tiempo de exposición en calor seco sobre el porcentaje de germinación y viabilidad

Después de cinco meses de iniciada la prueba de germinación, la viabilidad del tratamiento testigo (sin tratamiento térmico) se mantuvo en 100 %, mostrando los embriones una coloración roja intensa tanto en el epicótilo como en el hipocótilo, mientras que en semillas almacenadas por dos y cuatro meses y con tratamiento térmico, el porcentaje de viabilidad fue de 93,1 % y un 82,9 % respectivamente.

Los resultados muestran que no hubo efecto significativo de los tratamientos de contenido de humedad, períodos de calor seco y tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de germinación (CV = 215,6 %). El porcentaje más alto de germinación se alcanzó en el tratamiento 19-2-15 a los siete meses con apenas un 5,4 %, a pesar de que un alto porcentaje de las semillas permanecieron

viables. Villalobos, Herrera y Mora-Urpí (1992) señalaron que las semillas de pejobaye, al igual que la de muchas otras palmas, poseen un período de reposo variable. Al respecto Geneve (1998) menciona que la tasa baja de germinación en palmas permite el establecimiento de un banco de semillas en el suelo que asegura la supervivencia de la especie.

La evaluación de la viabilidad al final del período de estimación revela que las semillas con 17 % y 19 % sin tratamiento térmico mantuvieron una viabilidad alta durante todo el período de almacenamiento. Sin embargo, cuando la semilla recibió tratamiento térmico, independientemente de la humedad de almacenamiento (Cuadro 1), la viabilidad se redujo significativamente ($p < 0,05$) conforme aumentó el tiempo de almacenamiento (0, 2, 4 y 8 meses). Coincidentemente, Martine, Laurent, Pierre, Hilaire y Justin (2009), encontraron que el contenido de humedad y el porcentaje de germinación de semillas de *Elaeis guineensis* se redujo durante el almacenamiento. Además, Villalobos, Herrera y Mora Urpí, (1992) encontraron que las semillas de *B. gasipaes* también pierden humedad durante los meses de almacenamiento previos a la inhibición cuando se almacenan en bolsas de polietileno, lo que puede reducir su germinación.

Al considerar las humedades de almacenamiento y el tratamiento térmico por 15 y 30 días, la viabilidad se conservó mejor en la semilla almacenada con 17 % de humedad; ya que la misma se redujo con respecto al testigo, pero se mantuvo alta y estadísticamente

Cuadro 1. Viabilidad de las semillas de *B. guineensis* a los 14 meses después de diferentes períodos de almacenamiento.

Table 1. Viability of *B. guineensis* seeds at 14 months after different storage periods.

Meses de almacenamiento	Medias (%)	
8	29,4	A
4	45,7	B
2	52,9	C
0	65,8	D

Cuadro 2. Viabilidad de las semillas de *B. guineensis* después de 14 meses de observación según el tiempo de exposición en calor seco a 40 °C.

Table 2. Viability of *B. guineensis* seeds after 14 months of observation as a result of exposure time in dry heat at 40 °C.

Tiempo de calor a 40 °C (días)	Medias (%)	
30	33,8	A
15	48,5	B
0	63,0	C

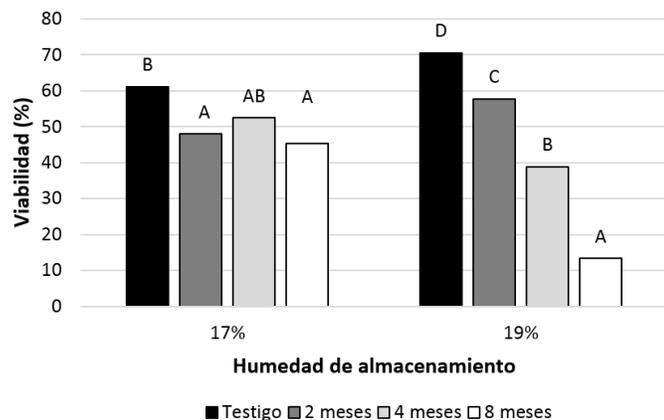


Figura 1. Viabilidad de las semillas de *B. guineensis* a los 14 meses de observación según el tiempo y humedad de almacenamiento.

Figure 1. Feasibility of *B. guineensis* seeds at 14 months of observation as a result of storage time and humidity.

invariable durante los 8 meses de almacenamiento. Por el contrario, en la semilla almacenada con 19 % de humedad la viabilidad se redujo significativamente ($p < 0,05$) y progresivamente conforme avanzó el almacenamiento (Figura 1). Además, los altos valores de viabilidad al final del almacenamiento indican que, bajo condiciones apropiadas de manejo, la calidad fisiológica de las semillas puede conservarse razonablemente bien. Martine et al (2009) encontraron diferencias significativas en la germinación de semillas de *Elaeis guineensis* almacenadas desde cero hasta seis meses, de manera que las semillas frescas presentaron 55,4 % de germinación, mientras que en las almacenadas durante tres y seis meses la germinación fue menor (45,8 y 36,7 %, respectivamente).

Por su parte (Capisto, 2004) afirma que en general se puede concluir que las semillas de palmas tropicales pierden rápidamente la viabilidad por debajo de 16 °C y que al reducir la humedad de las semillas probablemente se producen daños, por lo que se requiere de métodos controlados de desecación con el fin de aumentar el período de almacenamiento sin afectar el embrión.

Es importante mencionar que en este trabajo el período de imbibición empleado en *B. guineensis* (cinco días) fue suficiente para que las semillas absorbieran suficiente agua y alcanzaran valores de humedad similares a los determinados en la madurez fisiológica de las semillas. En palma de aceite, las semillas se sumergen en agua corriente durante siete días y se colocan al ambiente durante aproximadamente ocho horas (Alizaga, Herera y Alvarado, 2012).

Con la variable tiempo de exposición en calor seco a 40 °C, el resultado obtenido indica que el tratamiento testigo (sin exposición al calor) presenta un porcentaje de viabilidad significativamente mayor ($p < 0,05$) con respecto a los tratamientos con exposición por 15 y 30 días (Cuadro 2).

Las semillas no germinadas a los 14 meses se les removió el opérculo y se colocaron a germinar por cinco meses más. Se determinó que las semillas sometidas a calor seco por 15 días presentaron en promedio una mayor germinación (9,5 %) que las semillas calentadas por 30 días y el tratamiento testigo, con porcentajes de 6,7 y 4,3 respectivamente. Los tratamientos individuales con mayores porcentajes de germinación en semillas sin opérculo fueron 19-0-15 (25,0 %) y 17-0-15 (17,8 %) (Figura 2c y 2d). Asimismo, no se determinó efecto significativo del contenido de humedad sobre la germinación de semillas sin opérculo.

Lo anterior concuerda con el efecto positivo del tratamiento térmico recomendado comercialmente en la germinación de palma aceitera (Corrado y Wuidart, 1990), el hecho de que los tratamientos con 15 días de exposición a 40 °C promovieron la germinación y con las observaciones de (Carpenter y Ostmark (1993) en semillas de palma de *Rhapidophyllum hystrix* y de Rodrigues, Soares, Pereira y Monteiro (2013) en semillas de *Acrocomia aculeata*, con respecto al efecto positivo de remover el opérculo sobre la germinación.

En palma de aceite las semillas se calientan a 40 °C por períodos que varían entre 40 y 50 días (Herrera y Alvarado, 2012; Corrado y Wuidart, 1990; Martine et al., 2009) mientras que en pejobaye causa la muerte de la semilla (Villalobos y Herrera 1991). Sin embargo es importante mencionar que Alizaga et al. (2012) determinaron que el tratamiento térmico normalmente usado en semillas de palma de aceite puede ser un factor de deterioro en semillas previamente almacenadas debido posiblemente a que se ha reducido la intensidad de la latencia y por tanto son más susceptibles a cualquier tratamiento que provoque estrés en las semillas, conclusión que coincide con el efecto negativo, encontrado en este trabajo, de someter a calentamiento las semillas previamente almacenadas.

Adicionalmente al comparar únicamente el efecto del tiempo de almacenamiento en semillas sin opérculo, se obtuvo que las semillas sin previo almacenamiento (17 % y 19 % de humedad) presentaron una germinación significativamente mayor (14,6 %) en promedio con respecto a las semillas almacenadas (4,3 %). Es importante mencionar que en las semillas almacenadas por ocho meses y a las que se removió el opérculo, la germinación fue cero; excepto en los tratamientos sin calor, en los que de todas formas la germinación fue muy baja. Por lo tanto, es factible que las condiciones del almacenamiento empleadas (20 °C) pudieran favorecer la pérdida de viabilidad de las semillas o que simplemente las semillas sufrieron un proceso de deterioro natural.

También existe la posibilidad que el opérculo presente sustancias químicas, las cuales inhiban la elongación del embrión o bien que represente un obstáculo mecánico para la absorción de agua o la expansión del embrión. Al respecto, (Rodrigues et al., 2013) determinaron

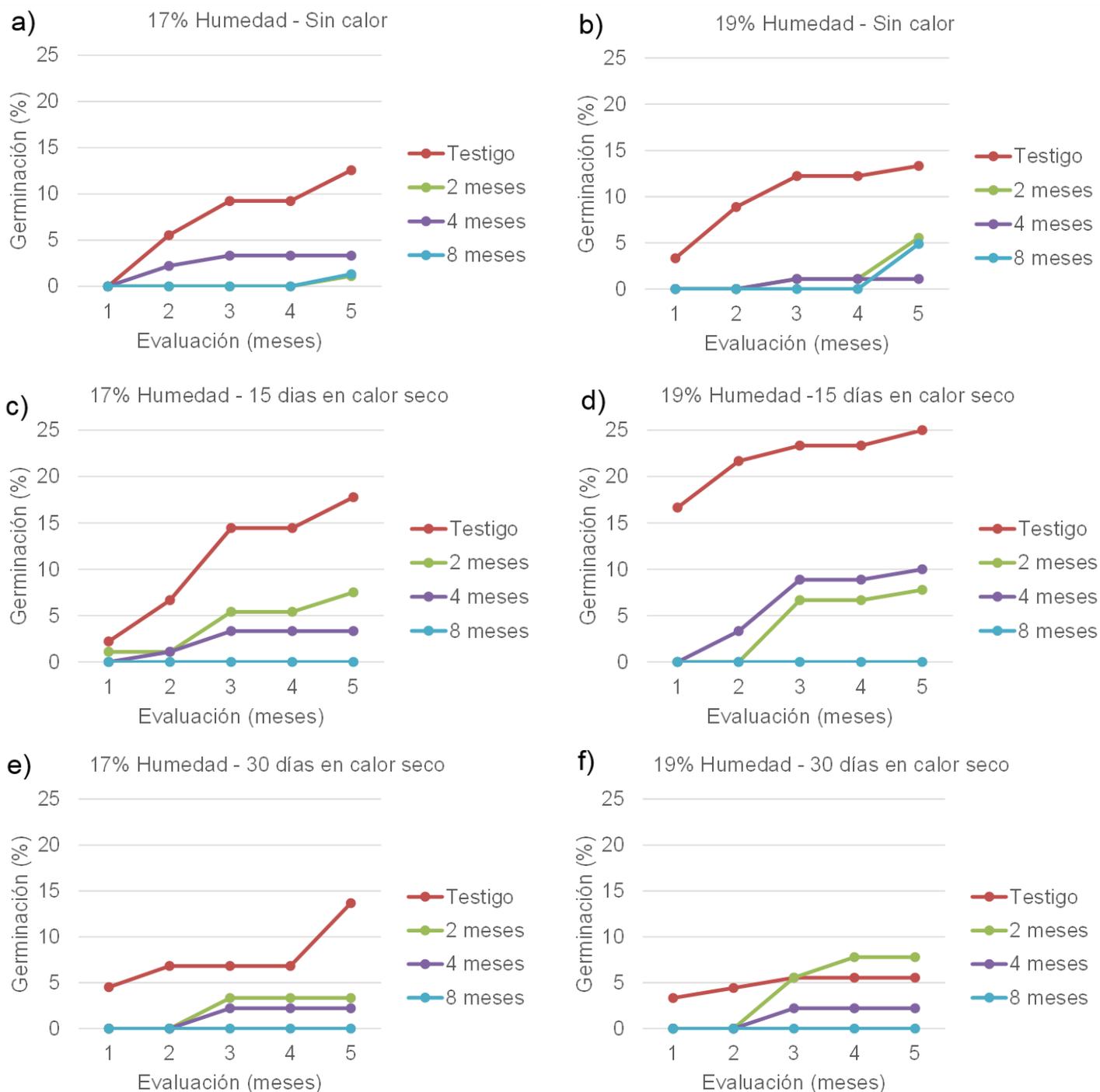


Figura 2. Efecto del porcentaje de humedad, tiempo de almacenamiento y exposición en calor seco sobre el porcentaje de germinación, en semillas de *B. guineensis* después de eliminado el opérculo

Figure 2. Effect of moisture percentage, storage time and dry heat exposure on germination percentage, on *B. guineensis* seeds after removal of operculum.

que en semilla de *Acrocomia aculeata* el opérculo no evita la absorción de agua pero reduce la velocidad de imbibición. Asimismo, Ribeiro, Souza, Rodrigues, Oliveira y Garcia, (2011) encontraron un efecto favorable sobre la germinación al eliminar el opérculo en semillas de *Acrocomia aculeata* y concluyen que dicha palma presenta latencia física y fisiológica.

Efecto de los reguladores de crecimiento

La evaluación de los tratamientos se realizó paralelamente con pruebas de tetrazolio para determinar la viabilidad de las semillas. A los cuatro meses de evaluación se observó que la viabilidad en las semillas se mantuvo en un 100 % en T1, T2, T4 y T7, en el T3 (AG_3 - 200 ppm -

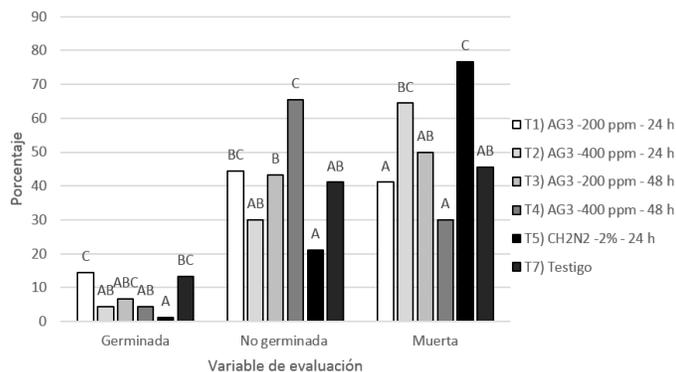


Figura 3. Porcentaje de semillas germinadas, no germinadas, enfermas y muertas en semillas de *B. guineensis* a las que se les retiró el opérculo después de 18 meses de observación.

Figure 3. Percentage of germinated, non-germinated, diseased and dead seeds of *B. guineensis* seeds with removal of operculum after 18 months of observation.

48 h) con un 90 % de viabilidad, En T5 (CH₂N₂ -24 h) la viabilidad también fue 100 % aunque los embriones presentaron una menor tinción que en los tratamientos con AG₃. Por el contrario, la Inmersión en CH₂N₂ al 2 % de concentración por 48 h (T6) provocó muerte total de las semillas.

A los catorce meses después de iniciados los tratamientos, se obtuvo únicamente un 2 % de germinación en el T7 (testigo) y 1 % de germinación en los tratamientos AG₃ - 200 ppm (10 ml l⁻¹) por 24 horas y AG₃ - 400 ppm (20 ml l⁻¹) por 48 horas de inmersión (T1 y T3). Los tratamientos con reguladores de crecimiento prácticamente no promovieron la germinación de las semillas después de 14 meses. Por el contrario, Herrera, Alizaga y Guevara (1998) encontraron que en palma aceitera el uso de cianamida hidrogenada y de ácido giberélico aumentó significativamente la germinación de las semillas. Es importante señalar que la viabilidad a los 14 meses de almacenamiento no mostró diferencias significativas entre la viabilidad de tratamientos con AG₃ T1 (77 %), T2 (90 %), T3 (77 %), T4 (73 %) y el testigo T7 (63 %) lo que se explica por un alto coeficiente de variación (CV: 21,5%). Además, muestra que el AG₃ no afectó la viabilidad, a pesar de no promover la germinación.

A una parte de las semillas remanentes que no germinaron al cabo de 14 meses se les retiró el opérculo y se evaluó por cuatro meses más. A los 18 meses de evaluación, el tratamiento testigo T7 (13,3 %) y el ácido giberélico T1 (14,4 %) promovieron un mayor porcentaje de germinación lo que demuestra que el opérculo es una barrera física para la germinación (Figura 3). Adicionalmente la suma de semillas no germinadas y muertas fue similar en todos los tratamientos. El uso de cianamida hidrogenada (T5) y de ácido giberélico (T2), presentaron un alto porcentaje de semillas muertas (podridas) con un 76,6 % y 64,4 % respectivamente ($p = 0,01$).

Frazão, Pinheiro y Kury (1981) llevaron a cabo experimentos con la germinación de género *Orbignya*, y observaron un mayor porcentaje de germinación con ácido giberélico. Además, Peraza y Montalvo (2013) recomiendan la adición de 1 mg l⁻¹ de AG₃ al medio de cultivo In Vitro en embriones de *Acrocomia aculeata* para obtener un 60 % de germinación en contraste con un 40 % obtenido en el testigo. El uso de reguladores de crecimiento como giberelinas y citoquininas en la germinación puede mejorar el rendimiento de las semillas de varias especies (Luz, Tavares, Paiva, Aguiar y Kanashiro, 2008). Cabe mencionar que el tiempo de inmersión en AG₃ no mostró efecto sobre la germinación.

Efecto del tiempo de fermentación e inmersión en agua caliente

Se encontró que la semilla de uva de monte no tolera altas temperaturas, por lo que todos los tratamientos sometidos a 100 °C por 30 segundos o más ocasionaron la muerte del embrión y se descartaron, por lo que se trabajó únicamente con los tiempos de fermentación. Luz et al. (2008) obtuvieron resultados similares al someter semillas de *Rhaphis exelsa* a 100 °C por uno, dos y cuatro minutos y provocando 100 % de mortalidad. Otros autores (von Fintel y Pammenter, 2004) obtuvieron un efecto dañino al calentar a 100 °C las semillas de *Phoenix reclinata*.

La evaluación de la viabilidad después de siete meses no mostró diferencias significativas entre el tratamiento testigo (76,6 % A) y los tratamientos de 7 días (86,7 % A), 14 días (83,3 % A) y 21 días de fermentación (81,5 % A). Con respecto a la germinación, transcurrido 10 meses el tratamiento con siete días de fermentación (11,67 % B) fue significativamente superior al tratamiento testigo (0 % A) y a los tratamientos de fermentación por 14 (4 % A) y 21 días (3,9 % A). Mora Urpí, Arrollo O y Mata M, (1992)

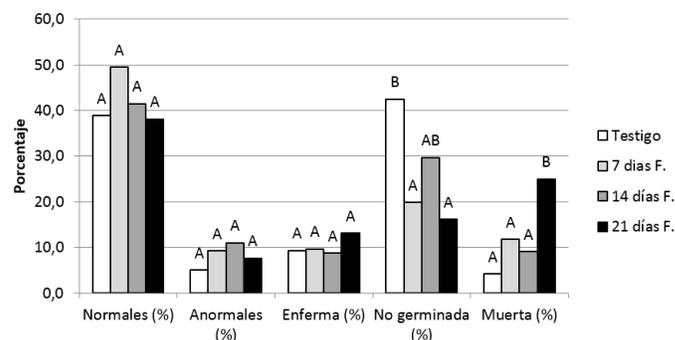


Figura 4. Efecto del tiempo de fermentación y de la remoción del opérculo a los 14 meses en semillas de *B. guineensis* con 10 meses de almacenamiento previo sobre el porcentaje de plántulas normales, anormales, semilla no germinada y semilla muerta.

Figure 4. Effect of fermentation time and operculum removal at 14 months in *B. guineensis* seeds for 10 months storage period, on the percentage of normal seedlings, abnormal seedlings, non-germinated seeds and dead seeds.

subrayan que se debe eliminar la pulpa de las semillas de *B. gasipaes* y sembrarlas frescas y no someterlas a un proceso de fermentación prolongado debido a que se reducirá el porcentaje de germinación.

Sin embargo, debido a que la condición externa de las semillas remanentes indicaba que se encontraban en buenas condiciones se decidió eliminar el opérculo y prolongar las pruebas de germinación por cuatro meses más. Al eliminar el opérculo la germinación aumentó entre cuatro y 20 veces (según tratamiento) el porcentaje obtenido en la evaluación a los 10 meses en semillas con opérculo, de manera que los valores de plántulas normales fueron 49,5 % A, 41,5 % A, 38,1 % A y 38,9 % A, en los tratamientos de 7 días, 14 días y 21 días de fermentación y en el testigo (Figura 4). Adicionalmente, en semillas sin opérculo no hubo efecto significativo de los períodos de fermentación sobre el porcentaje de semillas normales, anormales, enfermas y no germinadas, con excepción de las semillas fermentadas por 21 días que presentaron un mayor y significativo porcentaje de semillas muertas (25 %) (Figura 4).

La eliminación del opérculo a semillas previamente fermentadas y almacenadas por 10 meses incrementó significativamente la germinación hasta alcanzar un 42 % en promedio. Lo anterior, justifica el retiro de dicha estructura para obtener una germinación más homogénea y acelerar el proceso de germinación con fines comerciales.

Es importante mencionar que una ventaja comparativa de los tratamientos de fermentación, con respecto a los tratamientos en los que se empleó ácido sulfúrico (experimento I y II), es favorecer un mayor porcentaje de germinación en semillas sin opérculos. Además, logra disminuir los riesgos que conlleva la manipulación del ácido para eliminar la pulpa.

Conclusiones

- La semilla de *B. guineensis* presenta un reposo muy marcado por lo que germina en baja proporción después de varios meses de almacenamiento.
- Los altos valores de viabilidad al final del almacenamiento indican que, bajo condiciones apropiadas de manejo, la calidad fisiológica de las semillas puede conservarse.
- El opérculo es una barrera para la germinación y su remoción reduce el tiempo y aumenta la proporción de semillas germinadas.
- La semilla de *B. guineensis* es sensible a la exposición a altas temperaturas.
- El uso de reguladores de crecimiento (AG_3 y CH_2N_2) no promovió la germinación de las semillas.

Referencias

- Alizaga, R., Herera, J., & Alvarado, A. (2012). Germinación de semillas de palma aceitera (*Elaeis guineensis*): almacenamiento previo y posterior al tratamiento de calor para romper el reposo. *Oil Palm Papers*, 38, 10–18.
- Belén, D., López, I., Barranco, J., García, D., Moreno, M., & Linares, O. (2004). Caracterización fisicoquímica del aceite de la semilla de Píritu (*Bactris piritu* (H. Karst) H. Wendl.). *Grasas Y Aceites*, 55, 138–142.
- Capisto, C. (2004). GERMINACION DE LAS SEMILLAS DE PALMA: Revisión de un tema controvertido. Retrieved November 19, 2013, from <http://www.avepalmas.org/germina.htm>
- Carpenter, W. J., & Ostmark, E. R. (1993). Embryo Cap Removal and High-temperature Exposure -Stimulate Rapid Germination of Needle Palm Seeds. *Hortscience*, 28(9), 904–907.
- Ceballos González, G., Calvo Iribién, L., & Pérez, E. (2005). Germinación y supervivencia de semillas de *Thrinax radiata* (Arecaceae), una especie amenazada en la Península de Yucatán. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 9–20.
- Chízmar, C. (2009). Plantas comestibles de Centroamérica. (INBio, Ed.). Santo Domingo de Heredia.
- Corrado, F., & Wuidart, W. (1990). Germination des graines de palmier à huile (*Elaeis guineensis*) en sac de polyéthylène. Méthode par "chaleur sèche" Oléagineux. 45, 11, 511–518.
- Frazão, J., Pinheiro, C., & Kury, N. (1981). Experimentos com germinação de amêndoas de babaçu (*Orbignya spp.*) – I. São Luiz.
- Geneve, R. L. (1998). Seed dormancy in commercial vegetable and flower species. *Seed Technology*, 20(2), 236–250.
- Hartley, C. W. S. (1983). La palma de aceite. (C. E. Continental, Ed.). México.
- Henderson, A. (2000). *Bactris* (Palmae). *Flora Neotropica*, 79, 1–181.
- Herrera, J., Alizaga, R., & Guevara, E. (1998). Inducción de la germinación en semillas de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) utilizando tratamientos químicos. *ASD Oil Palm Paper*, 18(18), 1–16.
- Herrera, J., & Alvarado, A. (2012). Germinación de semillas de palma aceitera: estudios del efecto de la carga de racimos de la palma madre, la variedad y las condiciones (temperatura y oxígeno) durante el proceso de ruptura del reposo. *Oil Palm Papers*, 37, 25–30.
- Jones, D. L. (1995). The Propagation of Palms. In *Palms throughout the world* (pp. 97–106). Washington D.C., USA.
- Luz, P. B. D., Tavares, A. R., Paiva, P. D. D. O., Aguiar, F. F. A., & Kanashiro, S. (2008). Germinação De Sementes De Palmeira-Ráfia : Efeito De Lady Palm Seed Germination : Effects of Pre-Germination Treatments. *Phoenix Usa*, 32(5), 793–798.
- Maciel, N. (2001). Emergencia de la palma real venezolana (*Roystonea oleraceae* (Jacq.) O.F. Cook) en función de condiciones variables del fruto y la semilla. *Bioagro*, 13(3), 105–110. Retrieved from [/www.redalyc.org/articulo.oa?id=85713303](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85713303)

- Martine, B. M., Laurent, K. K., Pierre, B. J., Hilaire, K. T., & Justin, K. Y. (2009). Effect of storage and heat treatments on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*, 4(10), 931–937.
- Mora-Aguilar, R., Rodríguez-Pérez, J., Peña-Lomelí, A., & Ramírez-Lazo, V. (2003). Respuesta de *Chamaedorea elegans* Mart. a tratamientos de pregerminación. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 9(1), 135–149.
- Mora Urpí, J., Arrollo O, C., & Mata M, E. (1992). *Manual de Viveros frutícolas*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Costa Rica.
- Murugesan, P. K. (2005). Effect of accelerated aging on seed germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *dura* Becc.). *Seed Technology*, 27(1), 108–112.
- Ortiz Vega, R., & Fernández Herrera, O. (1994). *Cultivo de la palma aceitera*. (EUNED, Ed.) (1st ed.). San José, Costa Rica.
- Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6977–6985. <https://doi.org/10.1021/jf100536g>
- Osorio, C., Carriazo, J. G., & Ovidio, A. (2011). Antioxidant activity of corozo (*Bactris guineensis*) fruit by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *European Food Research and Technology*, 233(1), 103–108.
- Peraza, K., & Montalvo, P. (2013). INFLUENCIA DEL AG3 EN LA GERMINACIÓN IN VITRO DE COCOYOL (*Acrocomia aculeata* Jacq. Lodd. ex Martius). Memoria: VIII Reunión Nacional de Innovación Forestal, Veracruz. México.
- Pérez, A. (2009). Los productos derivados de frutas: fuentes de antioxidantes. CITA/UCR. San José. Retrieved from http://www.cita2.ucr.ac.cr/Alimentica/EdicionesAnteriores/Volumen_8,2010/Articulos/articulo_antioxidantes_y_bebidas_de_frutas-05nov09.pdf
- Ribeiro, L. M., Souza, P. P., Rodrigues, A. G., Oliveira, T. G. S., & Garcia, Q. S. (2011). Overcoming dormancy in macaw palm diaspores, a tropical species with potential for use as bio-fuel. *Seed Science and Technology*, 39(2), 303–317. <https://doi.org/10.15258/sst.2011.39.2.04>
- Rodrigues-Junior, A. G., Soares Oliveira, T. G., Pereira de Souza, P., & Monteiro Ribeiro, L. (2013). Water uptake and pre-germination treatments in macaw palm (*Acrocomia aculeata-Arecaceae*) seeds. *Journal of Seed Science*, 35(1), 99–105. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000100014>
- Surre, C. (1969). *La palmera de aceite*. Barcelona.
- Villalobos, R., & Herrera, J. (1991). Germinación de la semilla de pejibaye (*Bactris gasipaes*). I. Efecto de la temperatura y el sustrato. *Agronomía Cosrricense*, 15(1/2), 57–62.
- Villalobos, R., Herrera, J., & Guevara, E. (1992). Germinación de la semilla de pejibaye (*Bactris gasipaes*). II. Ruptura del reposo. *Agronomía Cosrricense*, 16(1), 61–68.
- Villalobos, R., Herrera, J., & Mora Urpí, J. (1992). Germinación de la semilla de pejibaye (*Bactris gasipaes*). III. Efecto del contenido de agua y de las condiciones de almacenamiento. *Agronomía Cosrricense*, 16(1), 69–76.
- von Fintel, G. T., & Pammenter, N. W. (2004). Seed behaviour in Phoenix reclinata Jacquin, the wild date palm. *Seed Science Research*, 14(2), 197–204. <https://doi.org/10.1079/>
- Wood, C. B., & Pritchard, H. W. (2003). Germination characteristics of fresh and dried Hyophorbe lagenicaulis seeds. *Palm Lawrence*, 47, 45–50.
- Zapata, I. C. (2010). Determinación de la capacidad antioxidante del corozo (*Bactris guineensis*). Colombia: VII Seminario Internacional de Frutas Tropicales: Agroindustria e Innovación. Conferencia llevado a cabo en el seminario Corporación Colombiana de investigación Agropecuaria (CORPOICA).