

Tratamientos pregerminativos en semillas de melina (*Gmelina arborea*)

Ramiro Alizaga ¹
Jorge Herrera ¹

Resumen

Se estudió el efecto de los siguientes tratamientos sobre la germinación de semillas de melina: inmersión en agua a 20 y 40 °C por periodos de 0, 24, 48, 72 y 96 horas, inmersión en agua a 70 °C por periodos de 0, 1, 2 y 4 minutos y finalmente inmersión en soluciones de AG₃ en concentraciones de 0, 200, 400, 600 y 800 µg/mL, durante 24 y 48 horas. La germinación se evaluó a los 9 y 19 días después de iniciada la prueba. Todos los tratamientos con AG₃ estimularon fuertemente la germinación de las semillas, con la concentración de 600 µg/mL se alcanzó el mayor porcentaje (89%). Los tratamientos de inmersión en agua a 40 °C ocuparon una posición intermedia (80% con 48 h.). La inmersión a 70 °C prácticamente no estimuló la germinación.

Introducción

Durante los últimos 30 años se ha desarrollado una preocupación cada vez

mayor por la destrucción del área boscosa y por la necesidad de estimular el establecimiento de plantaciones, para suplir una demanda creciente de productos forestales y para recuperar áreas deforestadas. En los países centroamericanos se ha optado principalmente por la introducción de especies exóticas, en función de intereses o preferencias particulares y no con base en criterios técnicos y ecológicos (Salazar, 1989). Vista como una explotación comercial, la melina (*Gmelina arborea*) representa una opción promisoriosa, aunque, al igual que con la mayoría de las especies tropicales, existe poca información acerca de su comportamiento en nuestras condiciones ambientales.

La melina es una especie natural del sureste asiático, pertenece a la familia Verbenaceae y se adapta bien en zonas tropicales entre los 0 y 1000 msnm. Necesita temperaturas entre 24 y 35 °C y una precipitación anual de 1 000 a 3 000 mm. La floración ocurre entre enero y marzo, y los frutos se cosechan entre mayo y julio

¹ Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Miembros del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

(Musálem, 1989). La semilla se encuentra recubierta por un fruto caroso y un endocarpo (frecuentemente confundido con la semilla) que posee dos o tres lóculos con el mismo número de semillas (Álvarez, 1995) y de 1 a 4 según Yap y Wong (1983). Más de una plántula puede emerger de aquellas estructuras con más de una semilla viable, pero no siempre en forma sincronizada. Las tasas de germinación varían entre lotes cosechados en diferentes épocas, lo cual posiblemente se debe a diferentes grados de madurez del fruto, así como a las condiciones en las cuales fueron cosechados. Según Zeaser (1996, comunicación personal, Ston Forestal, Corredores, Puntarenas), hay diferencias importantes en el porcentaje de germinación entre algunos clones, evidencia de que el factor genético debe considerarse en la producción comercial de semilla.

La semilla de melina se considera ortodoxa, por lo que se recomienda reducir su contenido de agua hasta el ámbito comprendido entre 6 y 10% (base húmeda) y almacenarla entre 3 y 5 °C para conservarla adecuadamente hasta por dos años (Álvarez, 1995). Por el contrario, a temperatura ambiente la viabilidad se reduce rápidamente (Musálem, 1989). Según Woessner y McNabb, citados por FAO (1991), esta semilla puede perder hasta 23% de su capacidad germinativa en 24 horas y reducirse prácticamente a 0% al cabo de una semana si las condiciones de transporte, manejo y acondicionamiento no son adecuadas. Lo anterior representa en apariencia un contrasentido, pues estas semillas se consideran ortodoxas; sin embargo, cabe la posibilidad que sean poco tolerantes a condiciones adversas de manejo o, bien, que esta merma en la germinación no se deba exclusivamente a pérdida de viabilidad, sino al establecimiento de un período de reposo o latencia inducida. Además, existe un gran déficit de información

fiable procedente de la investigación sobre cuáles son los mejores métodos para el ensayo de especies forestales tropicales (FAO, 1991), situación que dificulta una evaluación acertada de los atributos fisiológicos de estas especies. Por lo anterior, se debe realizar experimentación que permita determinar las mejores condiciones para obtener un máximo de germinación, tal como lo señalan las reglas de la International Seed Testing Association (ISTA, 1976).

En el país, la melina se ha sembrado por varios años. Sin embargo, no hay referencias acerca de trabajos tendientes a maximizar la capacidad germinativa de la semilla. En forma empírica, algunos silvicultores han seguido una metodología pregerminativa que aparentemente favorece la germinación. Dicho método consiste en colocar la semilla en agua por 5 ó 6 días (cambiando el agua diariamente) y luego dejándola con humedad superficial por un periodo similar antes de la siembra (Trujillo, 1995).

El objetivo de este trabajo fue evaluar varios tratamientos físicos y químicos para incrementar la velocidad y el porcentaje de germinación en semilla de melina.

Materiales y métodos

Se recolectó semilla de melina en la zona de Hojancha, provincia de Guanacaste, durante el mes de mayo. Los frutos se despulparon y los endocarpos debidamente limpios se secaron hasta un contenido de agua de 10%. La semilla (contenida en los endocarpos) se almacenó a 15 °C durante el tiempo en que se realizaron los experimentos en las instalaciones del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas de la Universidad de Costa Rica.

Se realizó una evaluación inicial de la germinación; esto es, se colocaron los

endocarpos en bandejas con arena acondicionada según las normas de ISTA (1976). Esta prueba mostró que solo el 41% de los endocarpos produjo al menos una plántula normal, mientras que en una alta proporción de estos las semillas se encontraban aparentemente en estado de reposo, pues no había signos externos de deterioro, razón por la que el lote se consideró apropiado para realizar el presente experimento.

Los tratamientos realizados fueron: inmersión en agua a 20 y 40 °C por periodos de 0, 24, 48, 72 y 96 horas, inmersión en agua a 70 °C por periodos de 0, 1, 2 y 4 minutos y finalmente inmersión en soluciones de AG₃ en concentraciones de 0, 200, 400, 600 y 800 µg/mL, durante 24 y 48 horas. La germinación o porcentaje de plántulas normales se evaluó 9 y 19 días después de iniciada la prueba. Para el análisis de los datos se usó un diseño irrestricto al azar. En el caso de la inmersión a 20 y 40 °C y en AG₃ se utilizó un arreglo factorial. Cada unidad experimental constó de 100 semillas con cuatro repeticiones.

Con el fin de evaluar la posible presencia de inhibidores de la germinación en la cubierta de la semilla, se colocaron 200 endocarpos en 250 mL de agua sobre un agitador orbital mecánico graduado a 200 ciclos por minuto durante tres horas y media. Después de lo cual, se filtró la solución. Las semillas se colocaron directamente para su germinación en arena. La solución se utilizó para humedecer papel filtro Whatman 40, sobre el cual se colocó 400 semillas de lechuga del cultivar Parris Island Cos, que son sensibles a la presencia de inhibidores de la germinación. Las evaluaciones de la germinación se realizaron cada 24 horas durante un periodo de cinco días. Además, se evaluó la longitud de las plántulas uno y seis días des-

pues de iniciada la prueba.

Resultados

Con la inmersión de la semilla a 20 y 40 °C por diferentes periodos, se encontró que la temperatura del agua tuvo un efecto significativo ($P > 0,01$) sobre la germinación. Sin considerar el tiempo de inmersión, en la primera evaluación (nueve días) se obtuvo 17 y 42% de plántulas normales con las temperaturas de inmersión de 20 y 40 °C, respectivamente. En la segunda evaluación (19 días), la germinación fue de 47% con inmersión a 20 °C y de 67% a 40 °C. Además, tiempos crecientes de inmersión produjeron un aumento en el porcentaje de germinación (Figura 1). En la primera evaluación todos los tiempos fueron significativamente ($P > 0,01$) superiores al testigo, aunque no se detectaron diferencias entre ellos. En esta fecha, los valores de germinación obtenidos con los diferentes tiempos de inmersión (exceptuando al testigo), fueron aproximadamente el 60% de

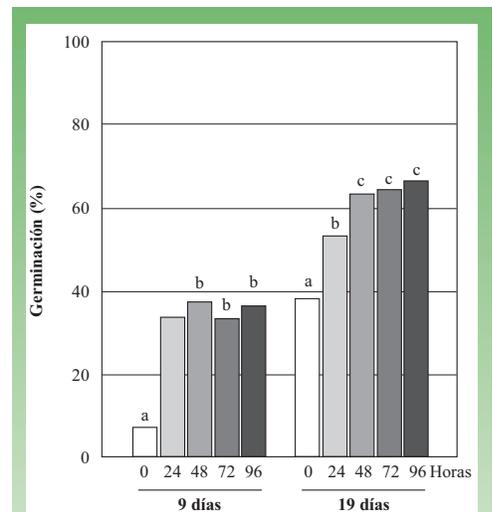


Figura 1
Efecto del tiempo de inmersión en agua sobre la germinación de semilla de *Gmelina arborea* (9 y 19 días después de iniciada la prueba)

los valores finales alcanzados. Como se observa en la Figura 2, la interacción entre la temperatura y el tiempo de inmersión resultó altamente significativa ($P > 0,01$). En ambas evaluaciones (9 y 19 días) hubo un comportamiento similar de las semillas, pues mientras a 20 °C se produce un aumento lento de la germinación conforme se incrementa el tiempo de inmersión, a 40 °C se observa un rápido ascenso en el porcentaje de plántulas normales con inmersión por apenas 24 horas, tendencia que continúa hasta las 48 horas, momento a partir del cual se observa una leve reducción y estabilización con los tiempos de 72 y 96 horas de inmersión.

La inmersión en agua a 70 °C tuvo un efecto significativo ($P > 0,01$) sobre la germinación. En la primera evaluación (Figura 3) todos los tratamientos resultaron estadísticamente diferentes al testigo, pero iguales entre sí. En la segunda se mantuvo una tendencia similar, aunque los tiempos de inmersión de cero y

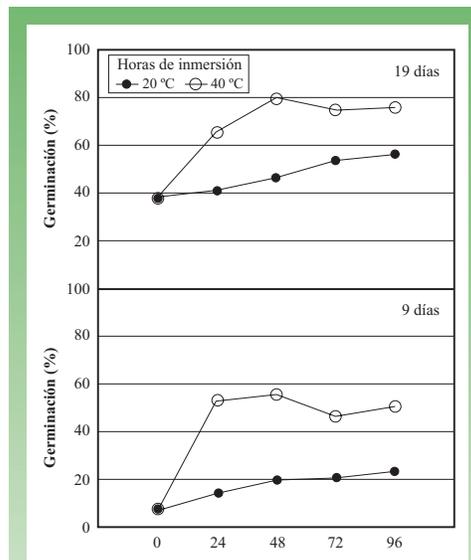


Figura 2
Efecto del tiempo de inmersión y la temperatura del agua (20 y 40 °C) sobre la germinación de semilla de *Gmelina arborea* (9 y 19 días después de iniciada la prueba)

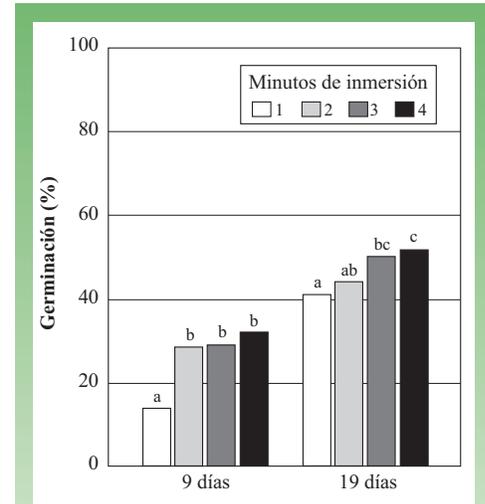


Figura 3
Efecto de la inmersión en agua a 70 °C sobre la germinación de semilla de *Gmelina arborea* (9 y 19 días después de iniciada la prueba)

un minuto fueron significativamente diferentes ($P > 0,01$) del tratamiento de cuatro minutos. No se detectaron diferencias entre la inmersión por dos minutos y aquellas por uno y cuatro minutos.

En las semillas tratadas con AG_3 no se observaron diferencias significativas asociadas con el tiempo de inmersión. Sin embargo, en ambas evaluaciones hubo diferencias significativas ($P > 0,01$) debidas a la concentración de AG_3 utilizada (Figura 4). Todas las concentraciones incrementaron significativamente la germinación, el valor más alto fue 89% y se alcanzó con la dosis de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, aunque no hubo diferencias estadísticas con respecto a las otras dosis. Con el fin de determinar el efecto de las dosis de AG_3 sobre el desarrollo de las plántulas, se midió la longitud del hipocótilo. En todos los casos se encontró un aumento de aproximadamente 20% ($P > 0,01$) con respecto al testigo sin AG_3 , mientras que no hubo diferencias estadísticas entre las dosis. Además, en ningún caso el AG_3 causó anomalías en las plántulas. No se encontró efecto de la interacción dosis

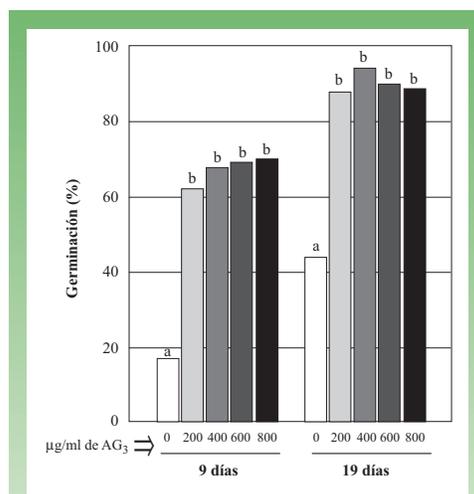


Figura 4
Efecto de la inmersión en ácido giberélico sobre la germinación de semilla de *Gmelina arborea* (9 y 19 días después de iniciada la prueba)

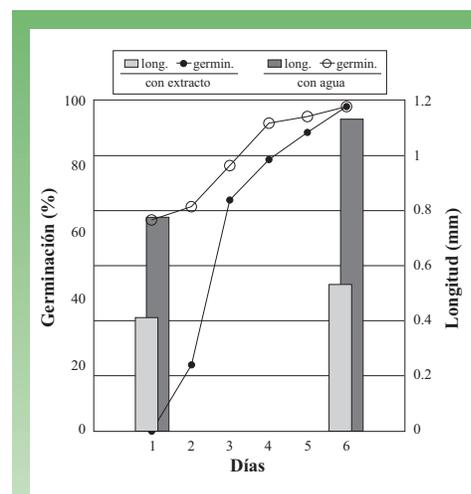


Figura 5
Longitud de plántulas y porcentaje de germinación de semillas de lechuga regadas con agua pura y con extracto soluble en agua obtenido de semilla intactas de *Gmelina arborea*

por tiempo de inmersión. Los resultados de la prueba realizada en semillas de lechuga mostraron un efecto marcado sobre la velocidad de germinación y la longitud de las plántulas, cuando se usó el extracto soluble en agua, obtenido por agitación de los endocarpos (Figura 5). En la primera evaluación, realizada 24 horas después de iniciada la prueba, la semilla en que se usó agua para humedecer el sustrato presentó 65% de germinación, mientras que aquella en que se usó el extracto soluble en agua presentaba 0% de germinación. No obstante, esta diferencia entre ambos tratamientos se redujo paulatinamente, de manera que al sexto día el porcentaje de germinación era similar. Sin embargo, la evaluación de la longitud de las plántulas mostró que tanto al inicio como al final de la evaluación la altura era significativamente mayor ($P > 0,01$) en los tratamientos humedecidos con agua pura. Por su parte, la semilla de melina que se agitó para la extracción de los posibles inhibidores obtuvo 82% de germinación en el segundo recuento.

Discusión

Autores como Yap y Wong (1983) y Álvarez (1995) manifiestan que la germinación de la semilla de melina recién cosechada es generalmente alta y no sugieren la existencia de alguna barrera física o fisiológica que interfiera con la activación del metabolismo germinativo. Sin embargo, Trujillo (1995) recomienda la inmersión en agua por siete días como un tratamiento pregerminativo necesario para promover la germinación. En forma similar, Musálem (1989) señala que la semilla debe sumergirse en agua durante cinco días y que luego debe mantenerse húmeda y a la sombra por cinco días adicionales antes de colocarla en condiciones adecuadas para su germinación. Zeaser (1996, comunicación personal, Ston Forestal, Corredores, Puntarenas) comenta que la semilla de melina requiere de un tratamiento pregerminativo para obtener una emergencia homogénea en el vivero. A pesar de lo antes mencionado, en general no se hace referencia a la existencia de reposo en la semilla. No

obstante, la evidencia obtenida en esta investigación indica la presencia de reposo en la semilla de melina, por lo que se hace necesario realizar investigaciones posteriores para determinar si en algunos genotipos las semillas lo presentan desde el momento de la madurez fisiológica o si se induce un reposo secundario durante el acondicionamiento de estas.

Los resultados obtenidos muestran que la sola inmersión en agua aumenta la rapidez y el porcentaje de semillas germinadas. El efecto de los tratamientos de inmersión en agua puede asociarse con la lixiviación de inhibidores de la germinación presentes en la cubierta seminal (Bewley y Black, 1994) o en el endocarpo. El experimento adicional en semilla de lechuga sugiere que existe uno o más inhibidores solubles en agua, ya que la germinación se retrasó considerablemente cuando el sustrato se humedeció con el extracto producto de la agitación de las semillas de melina. Asimismo, el tamaño de las plántulas se vio significativamente reducido por efecto del extracto. Otro aspecto que corrobora lo anterior es el alto porcentaje de germinación (82%) obtenido en la semilla de melina que se sometió al proceso de agitación para lixiviar posibles inhibidores. Cabe señalar que se debe investigar la presencia de inhibidores de otra naturaleza química, que no sean solubles en agua.

La práctica de introducir las semillas en agua caliente (generalmente entre 70 y 100 °C) es muy usada como tratamiento pregerminativo en especies forestales tropicales, entre las que podemos citar *Albizia guachipele*, *Albizia saman*, *Anacardium excelsum* y muchas otras (Trujillo, 1995 b). En semilla de melina, la inmersión en agua a 70 °C no produjo un incremento importante en el porcentaje de semillas germinadas. Aunque la melina podría no responder a este tipo

de tratamientos, es posible que las temperaturas y tiempos de inmersión no fueron adecuadas, situación que abre la expectativa de probar otras combinaciones.

El efecto de la inmersión fue potenciado notablemente cuando se hizo a 40 °C, evidencia de que dicha temperatura tienen un efecto positivo sobre la germinación de la semilla. Según Bewley y Black (1994), la acción de la temperatura sobre la interrupción del reposo no es aún bien comprendida y señalan que factores ambientales como luz y temperatura son necesarios para que muchas semillas puedan sobreponerse al estado de reposo, pero que las sutiles interacciones entre estos factores son difíciles de interpretar. Especialmente al tratar con aspectos vinculados a la temperatura, se corre el riesgo de confundir los requerimientos térmicos adecuados para que ocurra la germinación con la temperatura necesaria para interrumpir el reposo de las semillas. Lo anterior es particularmente complicado en semillas de especies forestales tropicales en las cuales tan poca investigación se ha realizado.

El éxito obtenido al tratar las semillas con AG₃ corrobora la existencia de reposo en melina, efecto que posiblemente se debe a una alteración del balance entre inhibidores y promotores que estimuló el desencadenamiento del metabolismo germinativo. El papel de las giberelinas en la interrupción del reposo tampoco ha podido circunscribirse a una acción específica, y más parece ser un componente del balance de reguladores del crecimiento que funcionan dentro de la semilla. Por lo anterior, la acción individual de la sustancia en algunos casos puede ser menos importante que la interacción con los demás reguladores, especialmente con el ácido absísico (ABA) que funciona como represor de la germinación y con otros promotores como las citoquininas y el etileno. Así, la latencia se interrumpe no

solo al disminuir la concentración del ABA, sino también inclinando el balance hacia los promotores. Las semillas de algunas especies originarias de climas templados que presentan reposo, acumulan cantidades apreciables de ABA, las cuales se reducen en forma natural durante el período invernal, o cuando se mantienen embebidas en agua por tiempos prolongados a temperaturas mayores. En otras especies el nivel de ABA decrece paulatinamente durante su almacenamiento. La acción de las giberelinas se ha asociado también con requerimientos de temperatura o luz para interrumpir el reposo, principalmente en especies de clima templado que necesitan del preenfriamiento para interrumpirlo, sea porque se estimula el mecanismo productor de giberelinas o porque aumenta la sensibilidad del embrión a este promotor (Bewley y Black, 1994).

La utilidad de los tratamientos para interrumpir el reposo estriba principalmente en que promueven una germinación alta y homogénea, lo que a su vez facilita el manejo de los árboles en el vivero y reduce los costos de operación. Los resultados obtenidos en este ensayo demuestran que es posible usar comercialmente el AG₃ y la inmersión en agua a 40 °C.

Bibliografía

Álvarez, M.L. 1995. Procesamiento de frutos y semilla de *Bombacopsis quinatum*, *Gme-*

lina arborea y *Eucalyptus spp.* In E. Trujillo. Curso regional sobre recolección y procesamiento de semillas forestales. CATIE, Turrialba. s.p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales, con especial referencia a los trópicos. Compilado por R.L. Willan. FAO, Roma. 502 pp.

International Seed Testing Association. 1976. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Madrid, Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. 184 pp.

Musálem, M.A. 1989. Características sobresalientes de la biología, recolección, procesamiento y tratamiento de las semillas de las 14 especies prioritarias de AUM del proyecto Madeleña. In I y II Curso centroamericano de silvicultura de plantaciones de especies de árboles de uso múltiple. CATIE, Turrialba. s.p.

Salazar, R. 1989. Necesidades de semilla forestal mejorada en América Central. In I y II Curso centroamericano de silvicultura de plantaciones de especies de árboles de uso múltiple. CATIE, Turrialba. s.p.

Trujillo, E. 1995 a. Fisiología de la germinación y tratamientos pregerminativos. In Curso Nacional de Recolección y procesamiento de semillas forestales, Guatemala. CATIE/DIGEBOS (Dirección General de Bosques y Vida Silvestre), Guatemala. s.p.

Trujillo, E. 1995 b. Manejo de semillas forestales, Guía técnica para el extensionista forestal. CATIE, Turrialba. 48 pp.

Yap, S.K.; Wong, S.M. 1983. Seed biology of *Acacia mangium*, *Albizia falcataria*, *Eucalyptus spp.*, *Gmelina arborea*, *Maesopsis emii-nii*, *Pinus caribaea* and *Tectona grandis*. The Malaysian Forester 46(1):26-45.