

Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.)

Effect of the seed coats on germination of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.) seeds

Fernando Moreno¹, Guido A. Plaza² y Stanislav V. Magnitskiy³

Resumen: La producción comercial de caucho (*Hevea brasiliensis* M.) presenta limitantes desde su fase de semilla, como son la consecución, la calidad y el bajo porcentaje de germinación, lo que trae como consecuencia la adquisición de grandes cantidades de semilla para el establecimiento de un huerto. El objetivo del presente trabajo fue identificar el efecto de la testa en el proceso de germinación a nivel interno, con el fin de proyectar futuras investigaciones que solucionen la problemática de la semilla en el cultivo de caucho. El efecto de las testas se evaluó, mediante la remoción total y parcial y sin remoción, a través de las variables índice de velocidad de germinación (IVG) y porcentaje de germinación (PG), manejado bajo diseño experimental completamente al azar (DCA); además, se obtuvo la curva de imbibición. Los mayores valores de germinación e índice de velocidad de germinación se presentaron en las semillas con tratamiento escarificado mecánico total. Los valores de imbibición permiten apreciar el efecto negativo de la testa al intervenir como barrera en el proceso de toma de agua.

Palabras claves adicionales: escarificación, imbibición, permeabilidad de testa

Abstract: Commercial rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.) tree growth has limitations at the seed production level. Seed collection, maintenance of seed quality, and low germination of seeds make it necessary to use high amounts of seeds for plant establishment. The objective of the present research was to identify the effect of the seed coats on germination of rubber seeds with the purpose of increasing percentage seed germination in rubber tree culture. The mechanical effect of testa on seed imbibition and germination was evaluated by partial or total removal of the seed coats. The following variables were evaluated in a completely randomised design (CRD): index of germination rate (IVG), percentage germination (PG), and the imbibition curve of seeds. The highest germination percentages and index of germination rate were found in seeds with testa completely removed. The values of imbibition rate allowed to identify the negative effect of the seed coats functioning as a barrier in the process of water uptake.

Additional key words: scarification, imbibition, testa permeability

Introducción

LA PRODUCCIÓN DE CAUCHO (*Hevea brasiliensis* Muell.) en los países suramericanos y en el mundo es deficitaria (Gouyon *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 2001; Schroth *et al.*, 2004). El cultivo de caucho en estos países, en general, y en Colombia, en particular, presenta variados inconvenientes que limitan la producción y explican el déficit nacional (Zuleta, 2003). Actualmente, en el país no se cuenta con semilla de caucho debidamente manejada

y de buena calidad, resultado de prácticas ineficientes en la recolección y de características intrínsecas de las semillas; en este último grupo se pueden mencionar las fisiológicas, que determinan su viabilidad durante unos 20 días, en condiciones ambientales propias del cultivo de caucho (Chin *et al.*, 1981). Este parámetro, dificulta su almacenamiento y, por tanto, la disponibilidad de semilla en algunas épocas del año. Para obtener un número mínimo de individuos, se utilizan grandes cantidades de semilla, aumentando con ello los costos de

Fecha de recepción: 07 de julio de 2006

Aceptado para publicación: 30 de noviembre de 2006

¹ Ingeniero agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: famorenoro@unal.edu.co

² Profesor asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: gaplazat@unal.edu.co.

³ Profesor asistente, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. e-mail: svmagnitskiy@unal.edu.co

producción en el rubro material vegetal. El estudio de la conservación y almacenamiento de semillas de caucho se hace necesario para un desarrollo adecuado y permanente de proyectos productivos de caucho en los que este insumo no sea limitante.

Las semillas de caucho provienen de un fruto correspondiente a una cápsula tricarpelar, con una semilla por carpelo, que presenta dehiscencia explosiva. Las semillas tienen testa dura con manchas color marrón y café claro. Han sido clasificadas como xerofóbicas, lo que es sinónimo de recalcitrantes, o sea, semillas que pierden su viabilidad por deshidratación producida por el medio donde se encuentren, sea éste de almacenamiento o natural (Vieira *et al.*, 1994). Lo anterior hace que las semillas pierdan fácilmente su poder germinativo y sea difícil el almacenamiento, en comparación con semillas ortodoxas. Para conservar su poder germinativo, las semillas de condición xerofóbica requieren temperaturas medias y humedades relativas altas (Triviño, 1990). La diferencia principal entre semillas ortodoxas y recalcitrantes se refiere a la tolerancia de las primeras a la desecación, esto es, la habilidad para conservarse viables a pesar de un bajo contenido de humedad (Farrant *et al.*, 1993; Bewley y Black, 1994). Los posibles mecanismos de mantenimiento de la viabilidad de las semillas recalcitrantes incluyen las relaciones de carbohidratos tipo sacarosa-rafínosa, que intervienen en el mantenimiento de la estabilidad de la membrana durante la desecación de la semilla y previenen su daño (Koster, 1991; Black y Pritchard, 2002). Otros mecanismos fisiológicos pueden estar envueltos en el deterioro de las semillas recalcitrantes durante los períodos de almacenamiento y ser activados por radicales libres de oxígeno (Bailly, 2002) y contenidos bajos de ácido abscísico (ABA) en el embrión (Barbedo y Bilia, 1998).

Las semillas de caucho son utilizadas para obtener plantas que se emplean como patrones, sobre los que se injertan las yemas procedentes de clones seleccionados como óptimos para el establecimiento de la nueva plantación (Zuleta, 2003). La disponibilidad de semilla, así como su calidad, es ampliamente discutida por los agricultores de las distintas regiones del país, donde actualmente se establecen nuevos cultivos; para la obtención de 50 mil patrones, es necesario germinar una tonelada de semilla, equivalente a unas 200 mil semillas, lo que representa una germinación de sólo el 25%. El bajo porcentaje de germinación se puede explicar por la alta sensibilidad de la semilla a la de-

secación (Barbedo y Bilia, 1998), de manera que su almacenamiento se dificulta al perder en el tiempo la viabilidad (Torres, 1999).

Los estudios de germinación de semillas de caucho son pocos, al igual que el conocimiento sobre las condiciones óptimas de germinación, como niveles de temperatura, humedad. Se asume que el bajo porcentaje de germinación de las semillas se debe a la reducción de la viabilidad de la semilla —antes o después del inicio del proceso— o a mecanismos de latencia. Por su parte, los mecanismos de latencia de las semillas de caucho pueden estar influenciados por la presencia de las testas.

Durante el desarrollo de la semilla dentro del fruto, tiene lugar la transformación del tegumento o tegumentos del óvulo en lo que se conoce como testa o cubierta de la semilla, mientras que la oosfera fecundada o cigoto se transforma en el embrión de la planta hija y el núcleo triploide, o núcleo del endospermo, se divide para dar origen al endospermo o albumen (Vargas y Hernández, 1990).

La germinación se inicia con la imbibición y termina con la emergencia. La imbibición es la toma de agua por parte de la semilla seca, sin importar si ésta se encuentra viable o no, y la emergencia es el proceso por el cual el eje embrionario en especies dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas crece, se extiende y atraviesa las estructuras que lo rodean (Azcón y Talon, 2003). La absorción de agua por parte de la semilla está directamente influenciada por la presencia de la testa y la permeabilidad que ésta tenga. El tejido de reserva absorbe agua a una velocidad intermedia hasta completar su hidratación. El papel de la testa es fundamental en la toma de agua por la semilla; ésta y su permeabilidad están relacionadas con el intercambio gaseoso (Bewley y Black, 1994).

El efecto de las testas puede ser químico —por ejemplo, por la presencia de inhibidores fenólicos— (Selle *et al.*, 1983) o mecánico —impidiendo el flujo necesario de agua y oxígeno para la germinación— (Kelly *et al.*, 1992). Bajo condiciones naturales, las semillas con cubiertas muy fuertes germinan sólo hasta que la testa es ablandada, lo que se consigue a través de degradación bioquímica en la digestión de los animales o microorganismos habitantes naturales del ambiente o por los efectos físicos del pisoteo (Sánchez *et al.*, 1983).

De acuerdo con la información obtenida de los productores y la revisión de la literatura relacionada, se

evidenció la poca información existente sobre las características de la semilla de caucho que se produce en el país; por esta razón, se planteó como objetivo de este trabajo evaluar el efecto de permeabilidad de la testa sobre la viabilidad y germinación de semillas de esta especie, bajo la premisa de que el incremento de la germinación por eliminación del efecto mecánico de las testas es inicialmente significativo.

Materiales y métodos

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio de fisiología de cultivos de la Facultad de Agronomía en la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Las evaluaciones se realizaron en semillas de caucho recolectadas en el segundo semestre de 2005 de la zona de La Victoria (Caldas, Colombia). Las semillas se dispusieron en cámara de germinación Seedburo Equipment a una temperatura de 25 °C, humedad relativa de 90% y oscuridad total durante el tiempo del ensayo. Las condiciones de humedad, luminosidad y temperatura fueron constantes, de acuerdo a los reportes de Ditleusen (1980) y Besnier (1989). Las mediciones se tomaron cada 7 d sobre semillas germinadas, o sea, aquellas que emiten radícula.

Para la elaboración de las curvas de imbibición que mostraran la dinámica del agua en la semilla, se establecieron dos tratamientos –semillas con testa y semillas sin testa, retirada mecánicamente– con tres repeticiones y 20 semillas por repetición. La variable, medida con balanza analítica Mettler P1 200, fue peso en fresco a períodos de 24 h. El ensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar (DCA), ya que las condiciones de homogeneidad del laboratorio lo permitían. Los tratamientos fueron: 1) escarificado mecánico total (EMT), 2) ruptura parcial de la testa (RT) y 3) testigo –semilla con testa completa (TC)–, con tres repeticiones y se estableció un tamaño de muestra de 50 semillas, para un total de 150 semillas por tratamiento y 450 semillas para todo el ensayo.

El efecto de los tratamientos se evaluó cada 7 d, tomando cada semilla como unidad de muestreo. Como referencia se tuvieron las siguientes variables:

- Total de semillas germinadas (PG). Para efecto del análisis estadístico se utilizó la transformación (Iossi *et al.*, 2003):

$$\text{ArcoSen}\sqrt{\text{PG} / 100}$$

- Índice de velocidad de germinación (IVG). Esta variable permite determinar el número de semillas germi-

nadas a intervalos de 7 d y su valor numérico se calcula a través de:

$$\text{IVG} = \sum N_i / D_i = N_1 / D_1 + \dots + N_{10} / D_{10} + \dots + N_N / D_N \text{ (Veira *et al.*, 1994)}.$$

Dentro del ensayo de germinación se elaboraron pruebas de viabilidad del embrión, utilizando la prueba bioquímica de tetrazolio 1% (Ditleusen, 1980), que permite conocer la actividad celular a través de una tinción de color rojo, por la reducción de esta sal incolora. Se tomaron dos variables para la evaluación: viables, correspondientes a embriones teñidos con rojo vivo, y no viables, correspondientes a embriones teñidos rosados y no teñidos. Al momento del establecimiento del ensayo se determinó el contenido inicial de humedad en la semilla, sometiéndola durante 24, 48 y 72 h a 105 °C con el fin de obtener el porcentaje de humedad.

Resultados y discusión

Imbibición

A los datos registrados se les realizaron análisis de regresión y se establecieron modelos gráficos, obteniéndose las curvas de tendencia para cada tratamiento. El tratamiento con testa se adecuó al modelo lineal y el tratamiento sin testa, al modelo logarítmico (figura 1). La diferencia en las tendencias de respuesta, a través de los pesos registrados en las semillas, evidenció el efecto de la testa en el proceso de imbibición. Las semillas del tratamiento sin testa iniciaron con un peso de 56,4 g, logrando alcanzar un peso final de 91,5 g. El tratamien-

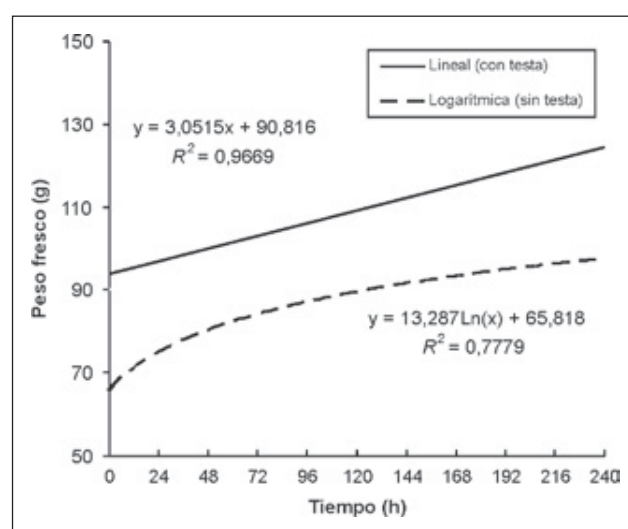


Figura 1. Efecto de la presencia de la testa en la toma de agua en semillas de caucho.

to con testa registró 90 g en la medida inicial y 122,2 g en la medida final. La diferencia en los pesos iniciales entre los dos tratamientos se debe a la presencia o no de la testa, cuya participación porcentual en el peso total de la semilla es 62%. La testa protege al embrión de las condiciones ambientales adversas, pero también puede afectar negativamente la captación de agua impidiendo el inicio de las reacciones bioquímicas que finalizan en el proceso de germinación (Bewley y Black, 1994; Omokhame y Alike, 2004).

En la curva de imbibición para el tratamiento sin testa se observa una diferencia en la tendencia antes y después de la tercera evaluación –a las 72 h–, diferencia que se aprecia por el cambio en la pendiente de la curva; en la parte inicial –entre 24 y 72 h– la pendiente es mayor que en el resto de la curva, representando una mayor velocidad en la toma de agua (figura 1).

De lo esto se puede deducir que el potencial hídrico de la semilla en la parte inicial es lo suficientemente negativo para lograr la entrada del agua necesaria para iniciar los procesos de germinación (Vásquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993; Zuleta, 2003). La segunda parte de la gráfica del tratamiento sin testa es estable, mostrando una reducción en el potencial hídrico de la semilla, relacionada con el inicio de la actividad enzimática propia del proceso de germinación a causa de la toma acelerada de agua (figura 1).

La gráfica comparativa muestra diferencias entre el tratamiento con testa y el tratamiento sin testa: las curvas de semillas con testa no muestran un incremento acelerado inicial del peso, como sí lo hacen las semillas sin testa, diferencia que se interpreta como la intervención de la testa en el proceso de toma de agua (figura 1). Teniendo en cuenta que la imbibición es la primera etapa del proceso germinativo (Bewley y Black, 1994), la permeabilidad que muestra la tendencia de la gráfica de las semillas con testa permite ver que la toma de agua es estable durante el proceso y disminuida por la influencia de la testa, por lo que se puede deducir que la presencia de la testa retrasa el proceso natural de germinación.

Las curvas de los dos tratamientos en sus fases lineales permiten apreciar incrementos estables en la toma de agua de 14% en el tratamiento con testa en las siete evaluaciones últimas y de 0,8% en el tratamiento sin testa entre las evaluaciones 3 a 7, a las 72 y 168 h (figura 1). El mayor incremento en el porcentaje de peso que se presenta en semillas con testa se relaciona con la pre-

sencia de este tejido y su potencial hídrico. La capacidad de retención de agua por la testa afecta de manera directa el transporte de agua, en términos de tiempo, a los tejidos de reserva (figura 1).

Germinación

El tratamiento escarificado total mecánico (ETM) dio mayor porcentaje de germinación (PG) y el mayor índice de velocidad de germinación (IVG), con una clara diferencia sobre los tratamientos ruptura de testa (RT) y el testigo con testa completa (TC). Los tratamientos RT y TC no presentaron diferencia significativa entre ellos, con una respuesta semejante en cuanto a IVG y PG (tabla 1). El porcentaje de humedad inicial de las semillas se registró en 22%, valor obtenido luego del proceso de desecación. Se presentó una correlación positiva altamente significativa entre el IVG y PG (tabla 2), entendiéndose con ello que los porcentajes de germinación disminuyen a través del transcurso del tiempo (Kelly *et al.*, 1992), lo que evidencia que las semillas de caucho pierden su viabilidad con el tiempo, condición característica de semillas recalcitrantes (Chin *et al.*, 1981).

Con base en los resultados de la prueba de imbibición, en los que la velocidad de germinación presentada por las semillas sin testa fue superior a las

Tabla 1. Promedios para las variables índice de velocidad de germinación y germinación para los tratamientos: escarificado total mecánico (ETM), ruptura de testa (RT) y testa completa (TC), en semillas de caucho.

Tratamientos	Índice de velocidad de germinación	Germinación (%)
ETM	3,70a	0,81a
RT	1,40b	0,32b
TC	0,23b	0,25b

* Tratamientos con letras diferentes presentan diferencia significativa para la prueba de Tukey ($\alpha < 0,05$).

Tabla 2. Contraste para los tres tratamientos e índices de correlación para las variables índice de velocidad de germinación (IVG) y porcentaje de germinación (PG) en semillas de caucho.

Variable	Respuesta	Índice de correlación R^2	Coefficiente de variación (%)	Contraste	IVG	PG
IVG	**	0,95	29,47	ETM vs. RT	**	**
PG	**	0,98	12,66	ETM vs. TC	**	**
				ETM vs. RT+TC	ns	ns

** diferencia altamente significativa; ETM, escarificado total mecánico; RT, ruptura de testa; TC, testa completa; ns, diferencia no significativa.

semillas con testa, y esto relacionado con los altos PG presentados por el tratamiento ETM, se puede deducir una intervención negativa de la testa en el proceso germinación (Cuquel *et al.*, 1994). La baja permeabilidad que ejerce la testa retrasa la entrada de agua a los tejidos de reserva que intervienen con la iniciación de la actividad metabólica (Ditleusen 1980; Azcón-Bieto y Talón, 2003).

Las semillas del tratamiento ETM presentaron más semillas germinadas (44), valor que corresponde a 85% del total de semillas germinadas durante los 7 primeros días. Los tratamientos TC y RT presentaron sus mayores porcentajes de germinación en el segundo y tercer intervalo (14 y 21 d), respectivamente, con valores de germinación de 5% para RT y 3% para TC. Una posible explicación de la diferencia en los resultados finales y en la dinámica de germinación es el efecto de la presencia de la testa (Fonseca y Freire, 2003).

Viabilidad

Al final del ensayo (20 d después de siembra), las semillas que no germinaron se sometieron a la prueba de viabilidad de embrión con tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5 trifeniltetrazolio), mostrando un 45% de embriones vivos en el tratamiento TC, un 30% en el tratamiento RT y ningún embrión vivo en el tratamiento ETM. Cuando una semilla, aun teniendo las condiciones favorables para germinar, no lo hace, inicia un estado de reposo (Ditleusen, 1980). En las semillas del tratamiento TC, sometidas a condiciones favorables de humedad y temperatura para germinación, 45% presentó embriones vivos al final de la prueba con bajos porcentajes de germinación, comparadas con el tratamiento ETM (cero embriones vivos). De lo anterior se puede deducir que las semillas de caucho pueden entrar en un período de reposo por la baja permeabilidad presentada por su testa o por la presencia de inhibidores de germinación en la testa (Vásquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993).

Las semillas de los tratamientos con testa y sin testa para los diferentes ensayos mostraron diferencias altamente significativas, con lo que se puede probar la influencia negativa de la testa en los procesos iniciales de germinación, que finaliza con la emergencia del epicotilo. Su estudio y relación con otras variables es un paso fundamental en la investigación sobre el manejo agronómico del caucho, que permitirá obtener semillas de buena calidad.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Asociación de Productores y Transformadores de Caucho de Paratebueno (Cauchopar) por su aporte económico.

Literatura citada

- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2003. Fundamentos de fisiología vegetal. 3ª reimpresión. McGraw-Hill Interamericana. 450 p.
- Bailly, C. 2002. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.* 14, 93-107.
- Barbedo, C. y D. Bilia, 1998. Evolution of research on recalcitrant seeds. *Sci. Agric. Piracicaba* 55(número especial), 121-125.
- Besinier, F. 1989. Semillas y tecnología. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 195 p.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Plenum Press, New York. 445 p.
- Black, M. y H. Pritchard (eds.). 2002. Desiccation and plant survival. CABI Publishing. 399 p.
- Chin, H.F., M. Aziz, B.B. Ang y S. Hamzah. 1981. The effect of moisture and temperature on the ultrastructure and viability of seeds of *Hevea brasiliensis*. *Seed Sci. Tech.* 9 (2), 411-422.
- Cuquel, F., M. De Carvalho y H. Chamma. 1994. Aliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de Erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.). *Sci. Agric. Piracaba*, 51(3), 415-421.
- Ditleusen, B. 1980. Almacenaje, ensayos y certificación de semillas forestales. Curso de capacitación sobre mejora genética de árboles forestales. FAO/ DANIDV. pp. 75-99.
- Farrant, J.M., P. Berjack y N.W. Pammenter. 1993. Studies on the development of the desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.: The acquisition of germinability and response to storage and dehydration. *Ann. Bot.* 71, 405-410.
- Fonseca S.C.L. y H.B. Freire. 2003. Sementes recalcitrantes: Problemas na pos-colheita. *Bragantia* 62(2), 297-303.
- Gouyon A., H. De Foresta y P. Levang. 1993. Does 'jungle rubber' deserve its name? An analysis of rubber agroforestry systems in southeast Sumatra. *Agrofor. Syst.* 22(3), 181-206.
- Iossi, E., R. Sader, K.F.L. Pivetta y J.C. Barbosa. 2003. Efeitos de substratos e temperaturas na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). *Rev. Brasil. Sement.* 25(2), 63-69.
- Kelly, K.M., J. Van Staden y W.E. Bell. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulat.* 11, 201-209.
- Koster, K.L. 1991. Glass formation and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiol.* 96, 302-304.
- Omokhame K.O. y J.E. Alike. 2004. Clonal variation and correlation of seed characters in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. *Indust. Crops Prod.* 19, 175-184.
- Sánchez, B. 1983. Factores que influyen en la fisiología de germinación de la *Urtica urens* L. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Schroth, G., V.H.S. Moraes y M.S.S. da Mota. 2004. Increasing the profitability of traditional, planted rubber agroforests at the Tapajos river, Brazilian Amazon. *Agric. Ecosyst. Environm.* 102, 319-339.
- Selle, C.M., E. González de Mejía, L.G. Elías y R.A. Bressani. 1983. Evaluación de algunas características químico-nutricionales de

- la semilla del árbol de hule (*Hevea brasiliensis*). Archivos Latinoam. Nutric. 33(4), 884-901.
- Torres, C.H. 1999. Manual para el cultivo del caucho en la Amazonia. Universidad de la Amazonia, Florencia (Colombia). 149 p.
- Triviño, D. 1990. Técnicas de manejo de semillas para algunas especies forestales neotropicales en Colombia. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal (Conif), Inderena N° 19. pp. 10-12.
- Vargas, A y J. Hernández. 1990. Estudio de la morfología de semillas y plántulas y de la fisiología de la germinación de ocho especies de malezas comunes de la zona cafetera de Cundinamarca. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Vásquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. Annu. Rev. Ecol. System. 24, 69-87.
- Vieira, R., L. Bergamaschi y L. Minohara. 1995. Qualidade fisiológica de sementes de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), tratadas com benlate durante o armazenamento. Sci. Agric. Piracaba 52(1), 151-157.
- Williams S.E., M. Van Noordwijk, E. Penot, J.R. Healey, F.L. Sinclair y G. Wibawa. 2001. On-farm evaluation of the establishment of clonal rubber in multistrata agroforests in Jambi, Indonesia. Agrofor. Syst. 53(2), 227-237.
- Zuleta, J. 2003. El cultivo de caucho. Manual para inversionistas y asistentes técnicos. FedECAUCHO, Bogotá. 31 p.