

Almacenamiento por período corto de semillas imprimadas de *Pinus patula*

Edgar Piedrahita Cardona¹

INTRODUCCION

La imprimación de semillas, especialmente el **osmoacondicionamiento** (OA), es un tratamiento de pre- siembra que propicia la germinación rápida y uniforme de las semillas, pre-requisitos para obtener un material vegetal homogéneo y vigoroso (Heydecker 1975; Parera y Cantliffe 1994). La imprimación podría presentar además otros beneficios directos como re-vigorización de semillas envejecidas y aumento de la capacidad germinativa, cuando las semillas son colocadas a germinar en condiciones adversas (Wang y Downie 1995), y beneficios indirectos generados como una consecuencia de la velocidad de germinación (Heydecker 1975).

El "avance" de las semillas, según Durrant *et al.* (1983) comprende aquellos tratamientos que implican el uso de agua o soluciones diluidas, que adicionan una cantidad de agua regulada hasta llevar las semillas al contenido de humedad requerido, en oposición a los tratamientos de OA que restringen la disponibilidad de agua. Ambos acarrear beneficios sobre la germinación, pero en el "avance" los efectos tienden a ser menores que con el OA.

Con relación a la conservación de las semillas **osmoacondicionadas** (Oas), Hilhorst y Toorop (1997) expresan que el almacenamiento podría afectarse después del re-secado a que son sometidas; así mismo indican que no existe consenso acerca de este fenómeno ya que también se han reportado comportamientos opuestos. Parera & Cantliffe (1994) y Hilhorst & Toorop (1997) documentan el fenómeno con evidencias que muestran que las semillas de muchas especies conservan después del almacenamiento los beneficios de la imprimación y que, aunque en menor proporción, también hay especies o condiciones que no retienen los beneficios del tratamiento.

Hegarty (1978) señala evidencias de que el efecto del desarrollo fisiológico propiciado por la hidratación parcial de la semilla, no necesariamente se pierde con la deshidratación, aunque los efectos benéficos podrían ser contrarrestados por daños en el nuevo proceso de secado. A este respecto Torres (1995) encontró que las semillas de tres especies forestales no retienen plenamente los

beneficios del OA después del secado y el almacenamiento. Estas inconsistencias en el almacenamiento de las semillas imprimadas, como también en los variados efectos de la imprimación, son las que determinan que las condiciones específicas y los tratamientos deben ser establecidos mediante ensayos de prueba y error (Bradford 1986; Wang y Downie 1995).

MATERIALES Y METODOS

Las pruebas fueron desarrolladas en el Laboratorio de Ecología y Conservación Ambiental de la Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

El lote de semillas de *Pinus patula* empleado tenía 10 años de almacenamiento, conservado en empaques de polietileno herméticamente sellados bajo condiciones de cuarto frío (5°C). Los parámetros de germinación representativos del lote (Control) se obtuvieron a partir de 15 submuestras tomadas al azar, de 100 semillas cada una.

Los tratamientos de imprimación fueron efectuados mediante OA y "avance". El OA, codificado con la letra **D**, se efectuó en soluciones acuosas de nitrato potásico (KNO₃) con un potencial osmótico de -0.6 MPa durante 12 días. El "avance", codificado con la letra **E**, se hizo mediante la hidratación de las semillas en agua pura al nivel de saturación (5 ml) durante tres días. Los tiempos de imprimación seleccionados fueron 24 y 48 horas, 7 y 15 días. Contando con los siguientes factores:

1° Tipo de imprimación: Osmoacondicionamiento (**D**) y Avance (**E**)

2° Tiempo de almacenamiento: 24 horas (**W**), 48 horas (**X**), 7 días (**Y**), 15 días (**Z**)

Se combinaron los dos factores para originar ocho tratamientos codificados como:

DW DX DY DZ EW EX EY EZ

Adicionalmente se consideraron para la comparación los siguientes testigos:

¹ Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia

TA : Testigo Absoluto, sin tratamiento alguno, cuyos parámetros corresponden a los representativos del lote (control).

TO : Testigo Relativo, esto corresponde a las semillas Oas sin almacenamiento.

La prueba fue establecida mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Cada tratamiento se repitió cuatro veces y se emplearon 100 semillas por replicación.

Las condiciones de imprimación fueron con una temperatura de 15°C en incubadora con luz blanca permanente (800 lux), en platos de petri con papel filtro (Schleicher & Schuell No. 1), esterilizados e impregnados con 5 ml de solución acuosa (Tratamientos de OA) y agua pura (Tratamientos de "avance"). Una vez terminado el OA las semillas fueron lavadas en agua corriente y las de ambos tratamientos fueron secadas al aire libre hasta alcanzar un contenido de humedad cercano al 11%. Luego se almacenaron en cuarto frío (4°C) en empaques herméticamente sellados.

Las pruebas de germinación se efectuaron en cubetas con cuarzo esterilizado, suministro de luz artificial desde las 8 hasta las 18 horas y oscuridad durante la noche. La temperatura media del ambiente fue de 24.2 °C (Rango 19.0 - 29.3 °C).

Los parámetros evaluados a los 20 días del inicio de la prueba fueron: Velocidad de Germinación (DIG) en días, Potencia Germinativa (PG) en porcentaje, Germinación

Media (G_{50}) en días, Índice de Czabator (IC) sin unidades, Uniformidad (U) rango en días, Crecimiento de las Plántulas (CTO) en mm y Biomasa (B) en gm/1000 plántulas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Potencia Germinativa (PG). La PG del tratamiento de almacenamiento durante 24 horas de semillas Oas (DW) alcanzó el valor más alto, 65.3% (Cuadro 1). Comparativamente con el testigo absoluto (TA) presenta una ligera superioridad en 2.9%, pero con relación a la PG del testigo relativo (TO) es inferior en un 9.7%. La diferencia entre la PG media de los tratamientos de semillas imprimadas, con relación al testigo absoluto (TA) es de 1.7% y no hay diferencias significativas entre los tratamientos, como tampoco entre los factores principales y sus interacciones (Anexo 1.1).

La PG del tratamiento de almacenamiento durante 15 días de semillas Oas (DZ Cuadro 1) es ligeramente inferior en un 2.5% al mejor de los tratamientos (DW) pero no difiere significativamente. Es, además, equiparable al testigo absoluto (TA).

En la Fig. 1 se grafica la tendencia de los resultados de potencia germinativa para los diferentes tratamientos de OA y "avance" (Fig. 1a y 1b) comparativamente con el testigo absoluto (TA). Se observa la tendencia general hallada por numerosos investigadores (Brocklehurst *et al.* 1987; Gray *et al.* 1990; Paci 1987; Hallgreen 1989; Bourgeois y Malek 1991; Wang y Downie 1995; Echeverry y González 1999), quienes reportan que la imprimación de semillas generalmente no mejora la potencia germinativa.

Cuadro 1. Parámetros germinativos y de desarrollo de las plántulas de *Pinus patula* para todos los tratamientos y los testigos a los 20 días de iniciadas las pruebas de germinación. Medellín, Colombia.

Tratamientos	DIG (días)	** PG (%)	G_{50} (días)	IC	CTO (mm)	BIOMASA (g/1000 pl.)	UNIFORMIDAD (rango en días)
DW	<u>2</u> / 0.22	<u>65.3</u> / 1.05	<u>5.8</u> / 0.43	<u>33.2</u> / 2.59	<u>61.4</u> / 1.32	*0.0660/ 1.1200	6/0.750
DX	<u>2</u> / 0.22	60.3/ 0.97	*6.0/ 0.45	*31.1/ 2.43	*61.0/ 1.31	*0.0670/ 1.1367	<u>5</u> /0.625
DY	<u>2</u> / 0.22	61.3/ 0.98	*6.0/ 0.45	*28.7/ 2.24	54.6/ 1.17	0.0620/ 1.0519	6/0.750
DZ	<u>2</u> / 0.22	62.8/ 1.01	*6.0/ 0.45	*28.7/ 2.24	*59.6/ 1.20	<u>0.0670</u> / 1.1411	6/0.750
FW	5 / 0.55	58.8/ 0.94	10.2/ 0.77	18.5/ 1.44	54.6/ 1.17	0.0590/ 0.9957	8/1.000
EX	5 / 0.55	60.3/ 0.97	*8.7/ 0.66	18.5/ 1.44	54.2/ 1.16	0.0600/ 1.0132	7/0.875
EY	6 / 0.66	58.8/ 0.94	12.5/ 0.94	14.1/ 1.10	56.2/ 1.21	0.0590/ 1.0005	9/1.125
EZ	5 / 0.55	57.8/ 0.92	*9.2/ 0.70	17.0/ 1.33	53.8/ 1.15	0.0580/ 0.9879	7/0.875
TA	9 / 1.00	62.4/ 1.00	13.3/ 1.00	12.8/ 1.00	46.6/ 1.00	0.0590/ 1.0000	8/1.000
TO	2 / 0.22	75.0/ 1.20	5.0/ 0.38	22.5/ 1.76	58.8/ 1.26	0.0609/ 1.0304	5/0.625

* No hay diferencias significativas con el mejor tratamiento.

** No hay diferencias significativas entre tratamientos.

Los valores del denominador de cada columna corresponden a la relación tratamiento / testigo absoluto (sin unidades).

Los subrayados corresponden al mejor valor para cada parámetro

Se exceptúan casos especiales como la germinación bajo condiciones adversas de temperatura o con lotes de bajo vigor (Heydecker 1975).

Velocidad de Germinación (DIG). Este parámetro, frecuentemente expresado en términos del día de inicio de la germinación de una fracción de semillas (5%), es uno de los beneficios característicos de la imprimación. Los resultados (Cuadro 1) indican que los tratamientos de almacenamiento de semillas osmoacondicionadas y "avanzadas" inician la germinación en los días 2 y 5

de G_{50} de 13.3 (testigo absoluto) a 5.8 días para el tratamiento de almacenamiento durante 24 horas y a 6 días para los tratamientos de almacenamiento durante 48 horas, 7 y 15 días; b) incrementa el IC de 12.8 hasta valores de 28.7 para las semillas con almacenamiento de 15 días y de 33.2 para las almacenadas durante 24 horas.

Con relación al testigo relativo (TO), el mejor tratamiento, cual es el almacenamiento durante 24 horas, presenta superioridad en el IC (33.2 vs 22.5) pero es ligeramente inferior en la G_{50} (5.8 vs 5 días).

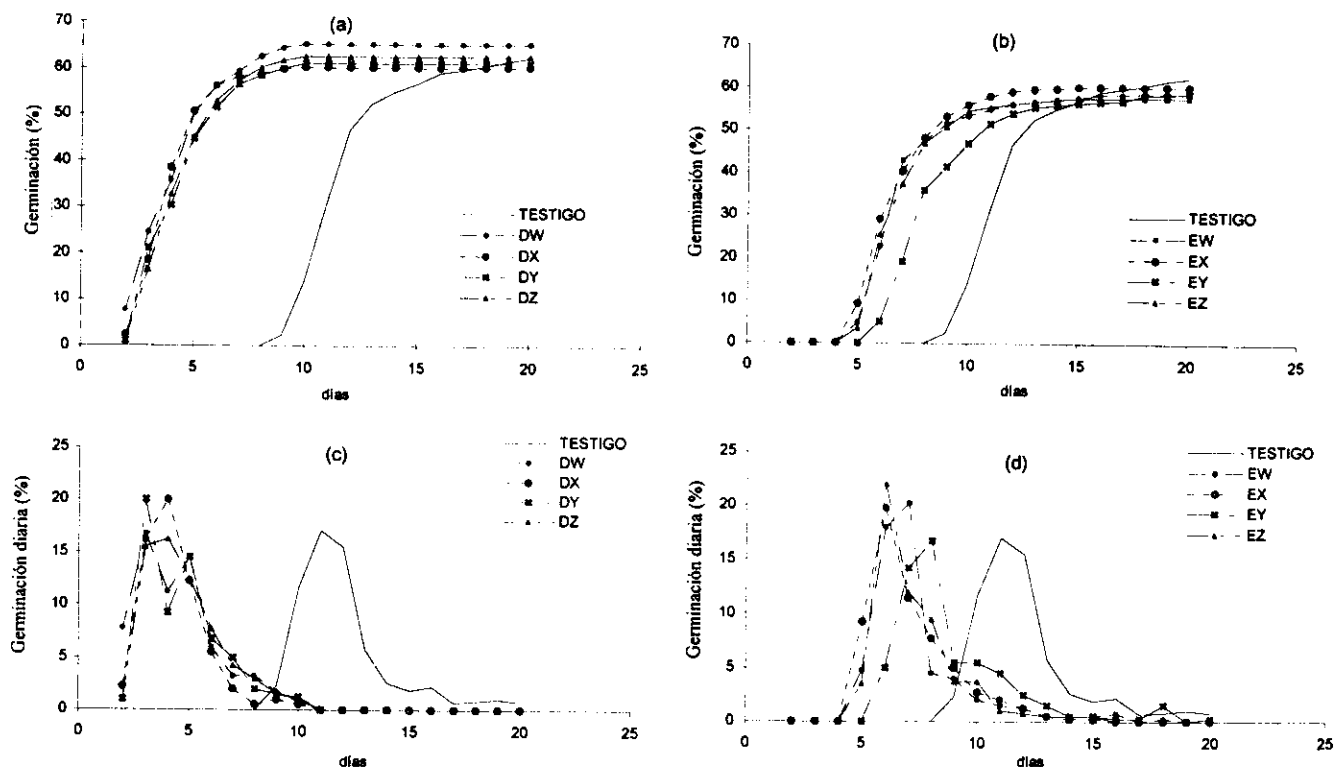


Figura 1 Germinación acumulada y diaria de las pruebas de germinación correspondientes a los tratamientos de almacenamiento de semillas de *Pinus patula* osmoacondicionadas (a,c) y "avanzadas" (b,d), Medellín, Colombia.

respectivamente (Fig. 1c y 1d); además, lo hacen de forma similar a sus tratamientos homólogos sin almacenamiento. Ambos tipos de tratamientos en los diferentes periodos de almacenamiento retienen el beneficio de incrementar la velocidad de germinación con relación al testigo absoluto (TA), el cual la inicia en el noveno día. Es decir, los tratamientos de OA aumentan la velocidad de germinación hasta en siete días, lo cual puede aportar ventajas para el manejo de la especie en el vivero.

Vigor. Este fue evaluado mediante dos índices: la Germinación Media (G_{50}) y el Índice de Czabator (IC). En el Cuadro 1 y la Fig. 2b se observa la eficacia de los tratamientos con relación al testigo absoluto (TA). El efecto de los tratamientos: a) reduce significativamente el tiempo

El efecto promedio del conjunto de tratamientos de OA difiere significativamente del efecto promedio del conjunto de tratamientos de "avance" (Anexo 1.2) y es en todos los casos superior tal que el tiempo medio de G_{50} es más bajo y el IC es más alto.

Este aumento generalizado del vigor, representado en la reducción del número de días para alcanzar la G_{50} (Hasta en 7.5 días) y en el incremento del IC (Hasta en 159%), con relación al testigo absoluto (TA), es uno de los efectos benéficos de la imprimación (Heydecker 1975; Brocklehurst y Dearman 1983 (I); Brocklehurst *et al.* 1987; Parera y Cantliffe 1994; Wang y Downie 1995). Dicho aumento es especialmente notable con lotes de semillas envejecidas (Heydecker *et al.* 1975; Piedrahita 1997).

Crecimiento de las Plántulas (CTO). A los 20 días de iniciado el ensayo, el crecimiento de las plántulas expresado en mm (Columna CTO del Cuadro 1), muestra que el testigo absoluto (TA) alcanzó 46.6 mm, el testigo relativo (TO) 58.8 mm y los tratamientos de almacenamiento durante 24 horas y 15 días alcanzaron 61.4 y 59.6 mm, respectivamente. Es decir, el osmoacondicionamiento tiene como efecto propiciar plántulas de mayor longitud hasta en 32% y retiene este beneficio durante el almacenamiento de las semillas.

(Columna B del Cuadro 1) muestran un aumento en la biomasa que fluctúa desde 5% (tratamiento DY) hasta 14% (tratamiento DZ). Las diferencias se aprecian en la Fig. 2d y en dicho aumento parece estar actuando el ion K^+ . Salisbury y Ross (1994) expresan que el potasio es un ion que puede ser absorbido por la célula y según Bhandal y Malik, citados por Salisbury y Ross (1994) puede ser "un activador de muchas enzimas que son esenciales en la fotosíntesis y la respiración, además de que activa enzimas necesarias para formar almidón y proteínas". Es decir, bajo condiciones de un adecuado potencial osmótico

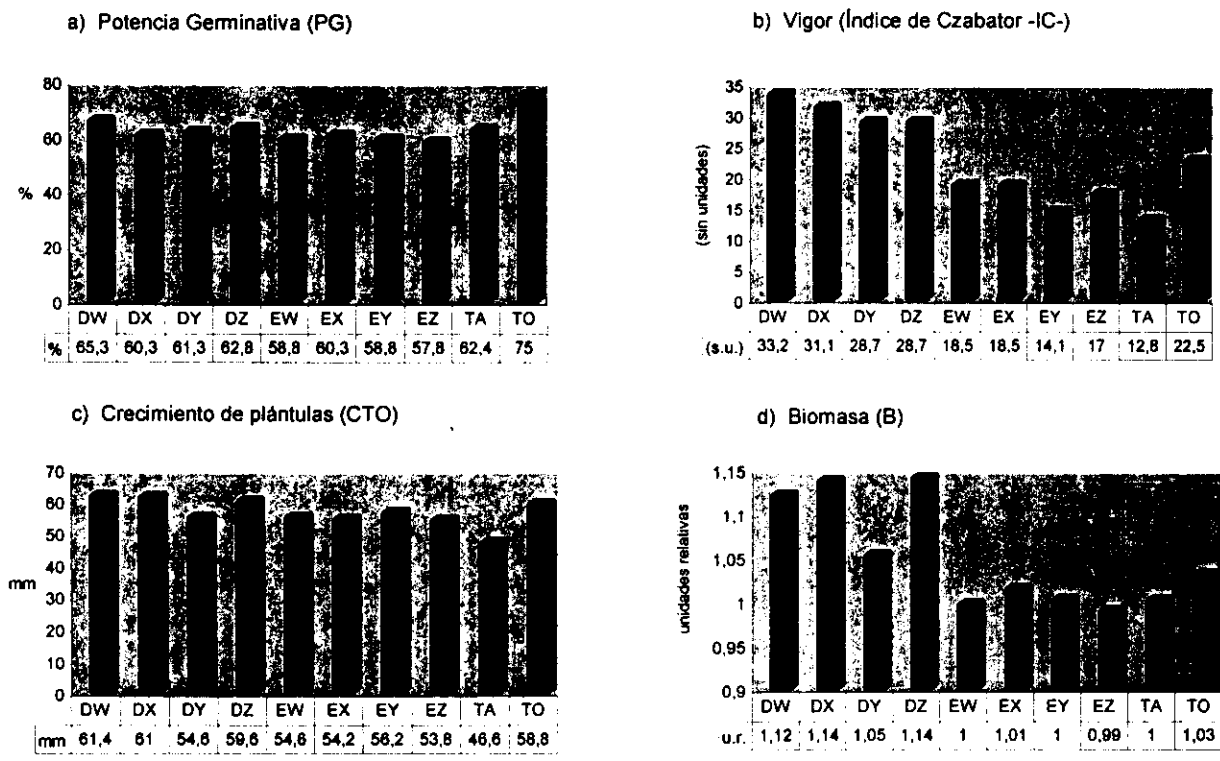


Figura 2 Esquema comparativo de las medias por tratamiento del almacenamiento de semillas imprimadas de *Pinus patula* para dos parámetros de germinación y dos de desarrollo de plántulas, Medellín, Colombia.

En la Fig. 2c se grafica el comportamiento de los diferentes tratamientos comparados con el testigo absoluto (TA); también se observa que los tratamientos de "avance" igualmente tienen efectos benéficos en el crecimiento de las plántulas.

Este aumento generalizado del crecimiento de las plántulas puede ser una consecuencia de la velocidad de germinación inicial, del aumento del vigor y en algunos casos, los más notables, por el aumento de la biomasa.

Biomasa (B). A pesar de que las pruebas de germinación fueron establecidas en un medio inerte como el cuarzo, los tratamientos de almacenamiento de semillas Oas

(interacción), el ion K^+ estaría actuando como una coenzima que favorece procesos anabólicos adicionales cuando se compara con los demás tratamientos de "avance".

Así mismo, el ion nitrato (NO_3^-), mediante reducción, podría ser transformado en amonios convertibles en compuestos orgánicos, esto es aminoácidos y otros constituyentes nitrogenados de los vegetales (Haigh y Barlow 1987). Este planteamiento hipotético también podría explicar tanto el aumento en vigor como el de la biomasa para los tratamientos de osmoacondicionamiento con KNO_3 .

Uniformidad (U). En el Cuadro 1 se presentan los valores de uniformidad alcanzados por cada tratamiento, considerando como tal el número de días tomado entre el

5% y 95% de germinación final. Los resultados indican que los tratamientos de imprimación, con énfasis en el OA, mejoran el grado de uniformidad. Este beneficio, conjuntamente con la velocidad de germinación, son los efectos más reportados como consecuencia de la imprimación. Ello es ventajoso para el manejo de plántulas en los viveros.

CONCLUSIONES

El almacenamiento de las semillas imprimadas de *P. patula* en cuarto frío a baja temperatura (4 °C) puede realizarse satisfactoriamente, al menos hasta por 15 días. Parece que el contenido de humedad con el cual se almacenan convencionalmente las semillas de esta especie es óptimo para conservar todos los beneficios que exhiben las semillas recién imprimadas.

El almacenamiento (hasta 15 días) de semillas imprimadas conserva, y en algunos parámetros aumenta, los efectos benéficos que cada tipo de imprimación tiene sobre la potencia germinativa, el vigor y la uniformidad de las semillas de *P. patula*.

De los dos tipos de tratamiento de imprimación aplicados, el osmoacondicionamiento genera efectos superiores al "avance" de las semillas en todos los parámetros evaluados (Anexo 2). Se destaca el efecto que sobre el crecimiento y la biomasa de las plántulas tiene el tratamiento de osmoacondicionamiento y posterior almacenamiento de las semillas. La superioridad relativa entre 124 y 159% para el vigor (IC), entre 17 y 32% para el crecimiento y entre 5 y 14% para la biomasa sugiere que durante el período de almacenamiento las semillas generan un sistema bioquímico más eficaz, quizás debido a los aportes de los iones K⁺ y NO₃⁻.

LITERATURA CITADA

- Bourgeois, J.; Malek, L. 1991. Metabolic changes related to the acceleration of jack pine germination by osmotic priming. *Tree Physiology* Vol. 8: 407-413.
- Bradford, K. J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience* 21(5): 1105-1112.
- Brocklehurst, P. A.; Dearman, J. 1983. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination. *Annals of Applied Biology* 102(3): 577-584.
- Brocklehurst, P. A. *et al.* 1987. Recent developments in osmotic treatment of vegetable seeds. *Acta Horticulturae* No. 215: 193-200.

- Czabator, F.J. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science*. 8 (4): 886-896.
- Echeverri P.C. A.; González P., J. F. 1999. Imprimación osmótica de semillas de pino romerón *Retrophyllum rospigliosii* (Pilg) C.N. Page. Tesis (In fieri) Ingeniería Forestal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 80 p.
- Durrant, M. J. *et al.* 1983. The use of water and some inorganic salt solutions to advance sugar beet seed. I. Laboratory studies. *Annals of Applied Biology*. 103: 507-515.
- Gray, H. R. *et al.* 1990. A comparison of two large-scale seed priming techniques. *Annals of Applied Biology* 116 (3): 611-616.
- Haigh, A.M.; Barlow, F.W.R. 1987. Germination and priming of tomato, carrot, onion, and sorghum seeds in a range of osmotic. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 112 (2): 202-208.
- Hallgren, S. W. 1989. Effects of osmotic priming using aerated solutions of polyethylene glycol on germination of pine seeds. *In: Annual Science Forest* No. 46; 31-37.
- Hegarty, T. W. 1978. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. *Plant, Cell and Environment* No. 1: 101-119.
- Heydecker, W. *et al.* 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246 (5247): 42-44.
- Heydecker, W. 1975. Invigoration of seeds? *Seed Science and Technology* 3(3 y 4): 881-888.
- Hilhorst, H.W.M.; Toorop, P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Advances in Agronomy* 61: 111-165.
- Paci, M. 1987. Effetti del trattamento con PEG sulla germinazione del seme de *Pinus nigra* Arn., *Larix decidua* Mill. e *Pseudotsuga menziesii* Franco. *L'Italia Forestale e Montana* 41 (2): 73-82.
- Parera, C. A.; Cantliffe, D. J. 1994. Presowing seed priming. *Horticultural Reviews* No. 16: 109-141.
- Piedrahita C., E. 1997. Effect of osmotic priming with PEG 6000, KNO₃, NaCl and Mannitol on germination of *Pinus patula* seeds. Abstract Book, IUFRO Symposium on Innovations in Forest Tree Seed Science & Nursery Technology, Raipur (India); November 22 - 25/97. p. 58-59.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. 1994. *Fisiología Vegetal*. México, D. F.: Iberoamérica. 759 p.
- Torres C., G. 1995. Osmocondicionamiento, secado y almacenamiento de semillas de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (guarantá), *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus grandis* W. Hill (ex Maiden). CATIE, Memorias de avances en la producción de semillas forestales en América Latina (Simposio). Managua (Nicaragua); octubre 16 - 20/95: p. 287-294.
- Wang, B.S.P.; Downie, B. 1995. Priming and invigoration of tree seeds. *In: Innovations in Tropical Tree Seed Technology. Proceedings of the IUFRO Symposium of the Project Group P.2.04.00 "Seed Problems", Arusha, Tanzania; September 7-10/95: p. 268-283*

ANEXO 1 Análisis de varianza para la potencia germinativa y rangos múltiples para los índices de vigor en el ensayo de almacenamiento de semillas de *Pinus patula* imprimadas, Medellín, Colombia.

Anexo 1.1 Análisis de varianza para el parámetro potencia germinativa de las semillas.

Fuentes de variación	Sumas de Cuadrados	Gl.	Cuadrados medios	F
Tratamientos	0.042967	7	0.006138	< 1
Efectos principales				
I: Tipo de imprimación	0.025138	1	0.025138	3.10 ns
L: Tiempo almacenamiento	0.005259	3	0.001753	< 1
Interacciones: IL	0.012570	3	0.004190	< 1
Residual	0.194470	24	0.008103	
Total corregido	0.237437	31		

Nivel de significancia 0.05

Anexo 1.2 Rangos múltiples para los índices de vigor de semillas de *Pinus patula* dentro de los factores tipo de imprimación (D, E) y tiempo de almacenamiento (W, X, Y, Z), Medellín, Colombia.

Nivel de los Factores	Media	Grupos homogéneos (*)
Germinación Media (G_{50})		
D	0.448113	A
E	0.768868	B
X	0.556604	A
Z	0.575472	A
W	0.603773	A
Y	0.698113	A
Índice de Czabator (IC)		
E	1.326734	A
D	2.373480	B
Y	1.671987	A
Z	1.781570	A
X	1.932382	A
W	2.014489	A

(*) Las letras indican diferencias significativas (5%)

ANEXO 2 Interacciones de los factores tipo de imprimación y tiempo de almacenamiento sobre los parámetros germinativos y de crecimiento de las plántulas, de *Pinus patula* en Medellín, Colombia.

