

EFFECTO DE TRATAMIENTOS FISICOS Y QUIMICOS SOBRE EL REPOSO DE SEMILLAS DE *Desmodium ovalifolium*¹

Sonia Rojas *
Jorge Herrera **

ABSTRACT

Effect of some physical and chemical treatments on seed dormancy of *Desmodium ovalifolium*. Dormant seeds of *Desmodium ovalifolium* were tested for germination after treatments by immersion in sulphuric acid, gibberellic acid, water at 40°C, water at 80°C, exposure to 40°C in dry conditions or to mechanical scarification, in search of an economical and efficient method to interrupt dormancy. Petri dishes with filter paper were used as germination substrate. A strong dormancy was evidenced, since no germinated seeds were observed in control treatments. Very little response was obtained with mechanical scarification and gibberellic acid, 20% and 23%, respectively. Better results were obtained with high temperature treatments, especially 80°C for 4 minutes, where the germination was 82%, and with sulphuric acid for 4 and 6 minutes, which produced 77% of germinated seeds. The possibility of germination inhibitors in the seed is discussed.

INTRODUCCION

Las leguminosas son utilizadas en la agricultura como alimento para el hombre y los animales, o como plantas fijadoras de nitrógeno, con lo cual se logra un considerable ahorro en el uso de fertilizantes de origen inorgánico (Harty, 1983).

Desmodium ovalifolium es una leguminosa forrajera proveniente de Asia, perenne y muy adaptada a regiones tropicales con precipitaciones de 2000 mm o mayores. Es muy tolerante a niveles bajos de pH, a niveles altos de aluminio (Duke, 1981), a las altas precipitaciones y altas temperaturas propias de estas regiones. Por estas razones ha

sido utilizada en combinaciones con pastos (Havard, 1975), o como planta de cobertura bajo cultivos perennes.

En Sri Lanka se emplea como una planta de cobertura en plantaciones de hule debido a su tolerancia a sombra densa y a que no compite con las plantas jóvenes de hule (Grof, 1982); además, compete exitosamente con especies agresivas de pastos como *Brachiaria decumbens*.

El uso de *D. ovalifolium* como forrajera se ve limitado por su alto contenido de taninos, los cuales afectan la digestibilidad de la planta por el ganado (Grof, 1983).

La baja germinación de las semillas es un problema común, encontrado en el establecimiento de las plantaciones. Una germinación lenta y pobre en condiciones naturales es producto del fenómeno fisiológico conocido como reposo de la semilla, donde, aunque la semilla sea viable, no germina bajo condiciones de temperatura, luz, agua y oxígeno apropiados (Quinlivan, 1971).

El mecanismo de reposo tiene como objetivo prevenir viviparismo o una germinación precoz en

1/ Recibido para publicación el 5 de setiembre de 1988.
* Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
** Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Beneficiario del Programa de Apoyo a Investigadores que patrocinan el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

regiones húmedas o frías y optimizar la distribución de la germinación en el tiempo y el espacio con el fin de obtener varios patrones de distribución (Bewley y Black, 1982).

Varios pueden ser los mecanismos que controlan este fenómeno; en las leguminosas, frecuentemente, existe una cubierta seminal dura, impermeable a la humedad o al oxígeno. Este es el caso de algunos frijoles silvestres. Esta cubierta, puede ser eliminada por acción mecánica o química. Algunos tratamientos incluyen perforación, abrasión o escarificación y exposiciones a sustancias tales como el ácido sulfúrico concentrado (Bewley y Black, 1982).

En algunas ocasiones el reposo se debe a la presencia de inhibidores químicos de la germinación en la cubierta seminal o en el embrión dentro de los que se incluyen una serie grande de compuestos químicos cuyo papel en la fisiología de la planta no ha sido determinada (Bewley y Black, 1982; Ketring, 1973). Al ponerse en contacto con agua éstos difunden lentamente, hasta que la concentración es suficientemente baja para romper el período de reposo (Rolston, 1978).

En algunas especies, tales como *Stylosanthes* spp. frecuentemente se ha hecho uso de tratamientos con calor para inducir la germinación de semillas (Mott y McKeon, 1979).

En general, existe poca información acerca del reposo en *Desmodium ovalifolium*, por esta razón, se decidió realizar este trabajo, cuyo objetivo fue encontrar un método económico y práctico para interrumpir el estado de reposo de esta especie.

MATERIALES Y METODOS

La semilla que se utilizó en este trabajo se recolectó en la Estación Experimental Los Diamantes en Guápiles, provincia de Limón y proviene de una selección de materiales que se realizó hace varios años. Genéticamente corresponde a una mezcla de varios genotipos, que actualmente componen una plantación establecida.

Una vez recolectada, se trasladó al Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica donde se realizaron los trabajos, cuatro días después de realizada la cosecha. Mientras se iniciaba el experimento, la semilla se mantuvo en una cámara fría a 5°C de temperatura y 45% de humedad relativa. Una vez realizados los tratamientos la semilla se sembró inmediatamente.

Se hicieron tratamientos físicos y químicos para interrumpir el reposo de la semilla (Cuadro 1). Los tratamientos de escarificación mecánica se realizaron utilizando lija fina número 110, colocada como forro en el interior de un recipiente, el cual fue agitado durante el tiempo indicado. Al realizar la escarificación con ácido sulfúrico, después de tratar las semillas, éstas fueron lavadas con abundante agua. En el caso del ácido giberélico los tratamientos se hicieron humedeciendo el sustrato. Para realizar los tratamientos a 40°C se usó una incubadora Precision Scientific modelo 815.

Cuadro 1. Tratamientos realizados para romper el período de reposo en *Desmodium ovalifolium*.

Tratamiento	Tiempo
Acido sulfúrico concentrado	0, 2, 4, 6 minutos
Acido giberélico 0, 50, 100, 150, 200 µg/L	humedecimiento del sustrato
Escarificación mecánica	0; 1; 1,5; 2; 2,5 minutos
Calor en seco (40°C)	0, 24, 48 horas
Calor en agua (40°C)	0, 24, 48 horas
Calor en agua (80°C)	0, 2, 4, 6, 8 minutos

Cada unidad experimental constó de 100 semillas y se realizaron dos repeticiones.

Las semillas para su germinación fueron colocadas en platos petri con tapa, sobre papel Whatman 40, el cual fue humedecido con agua destilada o con el ácido giberélico en el caso de este tratamiento, hasta saturación y se colocaron en una cámara de germinación a 30°C con una humedad relativa de 98%.

A los 7 días después de realizados los tratamientos se evaluó el número de semillas germinadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La semilla de *Desmodium ovalifolium* posee un reposo muy fuerte y prolongado como lo demuestra el hecho que no germinó ninguna semilla de los tratamientos testigo.

En la Figura 1A se presenta el resultado obtenido al sumergir la semilla en ácido sulfúrico concentrado por diferentes períodos de tiempo. La inmersión por dos minutos logró aumentar el por-

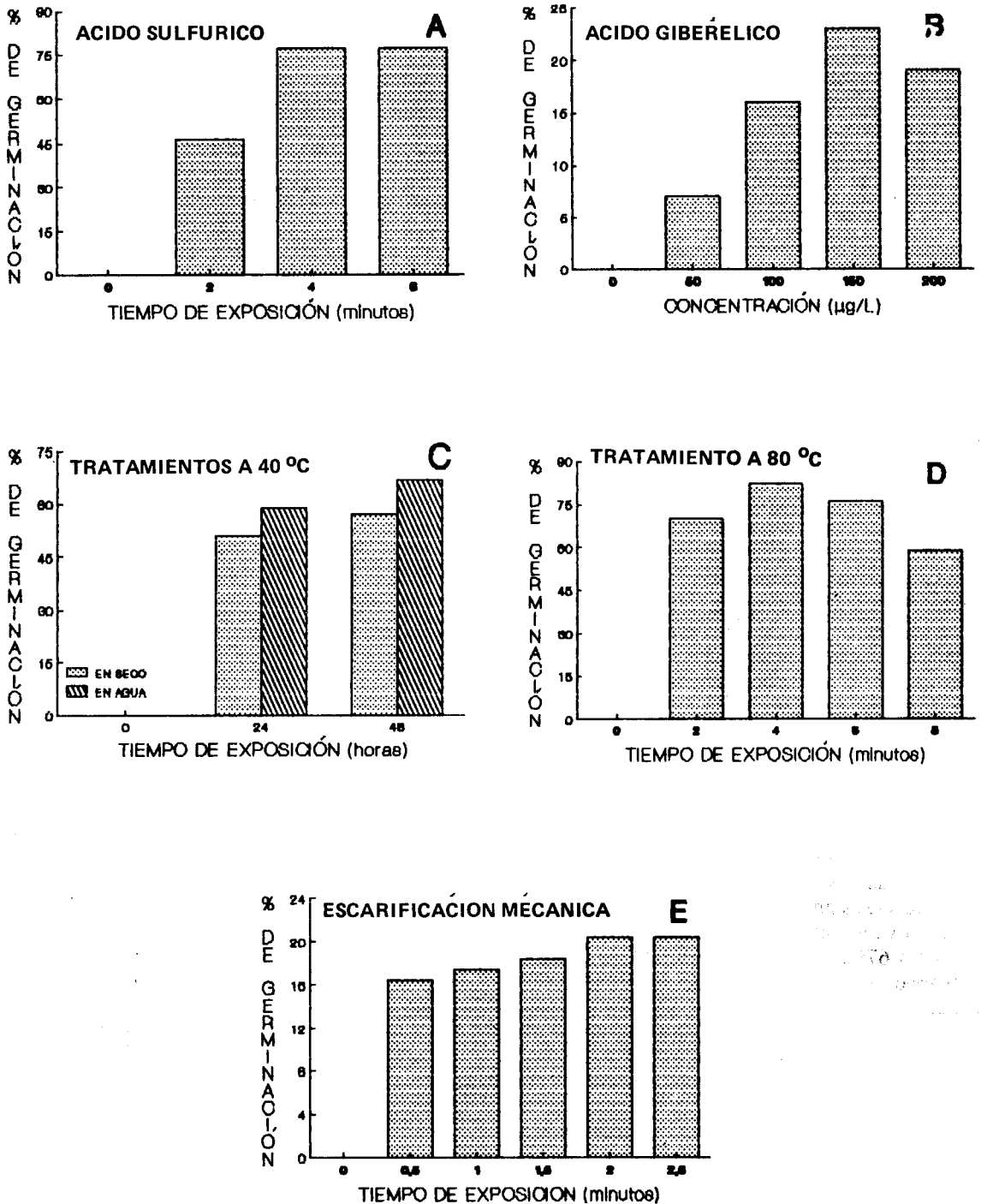


Fig. 1. Efecto de diferentes tratamientos sobre el porcentaje de germinación de *D. ovalifolium*. (A) Tratamientos con ácido sulfúrico; (B) ácido giberélico; (C) 40°C en agua y en seco; (D) 80°C en agua, y (E) escarificación mecánica.

centaje de germinación hasta un 46%, sin embargo, mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos de cuatro y seis minutos (77% de semillas germinadas en ambos casos). El rango de tiempos utilizado no permite determinar si exposiciones mayores tendrían un efecto beneficioso o negativo sobre el porcentaje de germinación, aunque estos tratamientos por períodos muy prolongados podrían resultar detrimentales por cuanto puede dañarse el embrión, en caso que el ácido llegue hasta él. El efecto del ácido sulfúrico al romper el reposo ha sido discutido por Bewley y Black (1982), quienes proponen que suaviza la cubierta de las semillas duras, como las de las leguminosas, conduciendo a un incremento permanente en la permeabilidad de la cubierta al agua, que también favorece la difusión de inhibidores de la germinación presentes en la semilla (Rolston, 1978).

Las aplicaciones de diferentes concentraciones de ácido giberélico tuvieron un efecto muy bajo sobre el porcentaje de germinación (Figura 1B), tanto así que el porcentaje máximo fue de apenas 23%, alcanzado al tratar la semilla con una concentración de 150 $\mu\text{g/L}$. Una leve disminución se observa con la concentración de 200 $\mu\text{g/L}$, aunque las diferencias no fueron significativas. La efectividad del uso de ácido giberélico para interrumpir el período de reposo ha sido discutido por Bewley y Black (1982), quienes dicen que concentraciones entre 10^5 y 10^6 M son efectivas, pero que muchas veces si las cubiertas seminales son impermeables, el efecto es negativo porque no puede penetrar; si se aplica escarificación mecánica es posible que la hormona penetre y se interrumpa la condición de reposo.

Los tratamientos a 40°C en seco y en agua produjeron un aumento considerable en la germinación (Figura 1C), aunque no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. El rango varió entre 51%, obtenido con 24 horas en seco, y 67%, con 48 horas en agua. No se probaron tiempos superiores ya que en los tratamientos en agua se observó el inicio de un proceso de fermentación, favorecido por la alta temperatura. El uso de la temperatura en seco normalmente se basa en el efecto que se puede producir sobre la cubierta seminal. Por ejemplo, en algunas especies de leguminosas se producen rajaduras en la región micropilar (Rolston, 1978); al sumergir la semilla en agua se promueve la liberación de inhibidores de la cubierta que difunden o se lixivian. Mott y McKeon (1982) comentan que para romper la condición de semilla dura en las leguminosas se emplean con éxito trata-

mientos con altas temperaturas en seco, tal como se logró en *Stylosanthes hamata* lo cual condujo a un incremento en la producción de esta leguminosa en el campo de pastoreo. El uso de este tipo de tratamiento presenta el inconveniente que si la temperatura no es suficientemente alta o el período no es el adecuado, quedan algunas semillas con la cubierta dura (Mott y McKeon, 1982). Según los resultados obtenidos en esta prueba, cabría la posibilidad de realizar experiencias adicionales a temperaturas un poco superiores por los mismos períodos de tiempo, ya que si bien el porcentaje de germinación no llegó a un 80% que es lo que convencionalmente se considera como un mínimo deseable, sí fue suficientemente alto como para despertar el interés de investigar este aspecto.

Los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron con la inmersión en agua a 80°C durante varios minutos (Figura 1D). El efecto positivo de las altas temperaturas se debe en muchas ocasiones a cambios que ocurren en la cubierta que favorecen la germinación, así como al suavizamiento de los tejidos para una mejor absorción de oxígeno y agua. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de 2, 4 y 6 minutos de exposición, es bastante notorio que a partir del tiempo de 4 minutos, que obtuvo un 82% de germinación, se provocó una disminución paulatina en estos valores, hasta llegar a 59% con una exposición de 8 minutos. La aplicación de temperaturas altas por períodos más o menos prolongados puede tener efectos negativos en la germinación de la semilla al inducir un reposo secundario (Bewley y Black, 1982), cuyo mecanismo de inducción no ha sido bien comprendido, sin embargo existe suficiente evidencia de que los cambios ocurren a nivel de embrión y no por alteraciones en la cubierta o los tejidos de reserva. Otro peligro existente al tratar semillas con altas temperaturas es que pueda ocurrir deterioro de los sistemas vitales de la semilla debido a desnaturalización proteica u otros procesos asociados.

La impermeabilidad de la semilla de algunas leguminosas es tan efectiva que la germinación se ve retrasada por períodos prolongados de tiempo. En muchos casos esta impermeabilidad se debe a las células de empalizada y a las capas internas de la cubierta seminal. El grado de impermeabilidad depende del grosor de las células y de la constitución química de las mismas. Esta acción restrictiva puede ser eliminada removiendo la cubierta por medio de escarificación mecánica. En este experimento este

tipo de tratamiento presentó resultados bastante bajos, con un máximo de 20,5% de germinación después de 2 y 2,5 minutos de escarificación (Figura 1E). Dos posibles causas pueden explicar este tipo de comportamiento: el primero, es que se haya ocasionado daño al embrión durante el proceso de escarificación, lo cual, debido al pequeño tamaño de la semilla, es muy difícil de verificar; y la segunda causa puede ser que el proceso de reposo no se deba únicamente a impermeabilidad de la cubierta, sino a la presencia de inhibidores, los cuales no son lixiviados o desnaturalizados durante el proceso. Muy posiblemente, en el caso de *Desmodium ovalifolium* se presente una combinación de causas que impiden la germinación de la semilla inmediatamente después de la cosecha, de manera que tanto la impermeabilidad de la cubierta como la presencia de inhibidores químicos sean las causas de un reposo tan fuerte como el que se observa en la semilla de esta especie. Pruebas adicionales son necesarias para establecer la naturaleza exacta del fenómeno.

RESUMEN

Semillas de *Desmodium ovalifolium* fueron tratadas con inmersión en ácido sulfúrico, ácido giberélico, agua a 40°C y a 80°C, exposición a 40°C en seco y escarificación mecánica, con el fin de interrumpir el período de reposo. En todos los casos las semillas fueron tratadas por diferentes períodos de tiempo, excepto con el ácido giberélico en el que diferentes concentraciones fueron aplicadas al sustrato. Una vez tratadas, las semillas fueron puestas a germinar en platos petri con papel filtro. Se evidenció un reposo muy fuerte, ya que no se observaron semillas germinadas en ninguno de los testigos.

Se obtuvo muy poca respuesta con escarificación mecánica y ácido giberélico, 20% y 23% de germinación, respectivamente. Mejores

resultados fueron obtenidos con tratamientos de alta temperatura, especialmente 80°C por 4 minutos, en que se alcanzó una germinación de 82%, también con ácido sulfúrico por 4 y 6 minutos que produjeron un 77% de semillas germinadas. Se discute la posibilidad de la existencia de inhibidores de la germinación en la semilla.

LITERATURA CITADA

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds. New York, Springer Verlag. v. 2. 75 p.
- DUKE, J.A. 1981. Handbook of legumes of world economic importance. New York, Plenum Press. p. 215-220.
- GROF, B. 1982. Performance of *Desmodium ovalifolium* wall in legume-grass associations. Tropical Agriculture 59 (1-4):33-38.
- GROF, B. 1983. Yield attributes of three grasses in association with *Desmodium ovalifolium* in an isohyperthermic savanna environment of South America. Tropical Agriculture 61(1-4):117-120.
- HARTY, R.L. 1983. Testing of tropical species for germination. Seed Science and Technology 11:41-56.
- HAVARD, D. 1975. Las plantas forrajeras tropicales. Barcelona, Blume. 380 p.
- KETRING, D.L. 1973. Germination inhibitors. Seed Science and Technology 1:305-324.
- MOTT, J.; McKEON, G.M. 1979. Effect of heat treatments on breaking hard seedness in four species of *Stylosanthes*. Seed Science and Technology 7:87-98.
- QUINLIVAN, B.J. 1971. Seed coat impermeability in legumes. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science 37:283-295.
- ROLSTON, M.P. 1978. Water impermeability seed dormancy. Botanical Review 44:365-396.