

EFFECTO DE HORMONAS VEGETALES EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE SOMBRERO (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard)

EFFECT OF HORMONES VEGETABLES IN THE GERMINATION OF SEEDS OF HAT (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard)

Vale-Montilla, Cesar¹

Universidad de Los Andes, Núcleo Universitario Rafael Rangel, Centro de Investigaciones Agrícolas, Biológicas, Educativas y Sociales (CIABES), CP 3150. Trujillo, Venezuela.

Resumen

Especificaciones para el desarrollo de tratamientos pregerminativos en especies de la familia Fabaceae, son escasas, por ejemplo, en *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard (sombbrero), especie con amplia distribución en Venezuela. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto pregerminativo de un regulador de crecimiento (Giber Grop®), sobre semillas de *C. fairchildiana*. Giber Grop® tiene como principio activo ácido alfa-naftalenacético 17.2 y giberelina (GA₃) 10% (p/p). El experimento fue realizado en bandejas para germinación y evaluado mediante un diseño completamente aleatorizado, cinco tratamientos y cuatro repeticiones de 16 semillas cada una. Los tratamientos consistieron de inmersión de semillas en solo agua durante 24 horas (testigo, 0 mg/L), inmersión en Giber Grop® durante 24 horas (200 mg/L, 400 mg/L y 600 mg/L) e inmersión en Giber Grop® durante 12 horas (600 mg/L). La germinación se evaluó durante 20 días y se analizaron en SAS 9.1® mediante prueba no paramétrica con análisis de dos vías (días después de la siembra y tratamientos) para porcentaje de germinación, valor de germinación y tiempo medio de germinación. Todos los tratamientos iniciaron la germinación al mismo tiempo (T₀), correspondiente al cuarto día de la siembra. Los tratamientos de Giber Grop® a 600 mg/L (12 y 24 horas) incidieron favorablemente en el porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG) y valor de germinación (VG). Los tratamientos de inmersión en solo agua y Giber Grop® (600 mg/L, 12 horas) lograron el menor tiempo medio de germinación.

Palabras clave: giberelinas, auxinas, escarificación, germinación.

Abstract

Specifications for the development of pre-germination in species of the Fabaceae family treatments are scarce, for example, in *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard (hat), species with wide distribution in Venezuela. The objective of this study was to evaluate the pre-germination effect of a growth regulator (Giber Grop®), on seeds of *C. fairchildiana*. Giber Grop® has as a principle active acid alfa-naftalenacético 17,2 and gibberellin (GA₃) 10 % (w/w). The experiment was carried out in trays for germination and evaluated using a design fully randomized, five treatments and four replicates of 16 seeds each. Treatments consisted of immersion of seeds in water for 24 hours (witness, 0 mg/L), Giber Grop® immersion for 24 hours (200 mg/L, 400 mg/L and 600 mg/L) e Giber Grop® immersion for 12 hours (600 mg/L). Germination was evaluated for 20 days and were analysed in SAS 9.1® using non-parametric test analysis of two-way (days after sowing and treatments) for percentage of germination, germination and mean germination time value. All treatments initiated germination at the same time (T₀), corresponding to the fourth day of planting. Giber Grop® treatments 600 mg/l (12 and 24 hours) impacted favorably on the percentage of germination (PG), time of germination (TMG) and value of germination (VG). Treatments of immersion in water only and Giber Grop® (600 mg/L, 12 hours) achieved the shortest mean germination time.

Key words: gibberellins, auxins, scarification, germination.

Recibido: 27/06/2018 - **Aprobado:** 27/09/2018

¹ Ingeniero Forestal, Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales, Mérida, Venezuela. Msc. en Entomología, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Caracas, Venezuela. Línea de investigación: Entomología, Análisis de crecimiento de plantas. E-mail: cvale@ula.ve - cesarva2003@gmail.com

Introducción

El género *Clitoria* (Fabaceae-Papilionoideae), está conformado fundamentalmente por lianas, hierbas y pequeños arbustos. Esta representado en Venezuela por unas 17 especies, ampliamente distribuidas en el país. La especie *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard, se consigue creciendo espontáneamente en la Cordillera de la Costa, y en forma cultivada en parques, plazas y jardines del país. Se reproduce por semilla con crecimiento relativamente rápido, y un sistema radical superficial (Aristeguieta, 1973; Hoyos, 1979). En Brasil, en regiones del Sudeste y Norte, es muy utilizada en programas de reforestación, arborización de vías, plazas públicas y estacionamientos, debido a su copa larga y frondosa, así como por su rápido crecimiento (Lorenzi, 2002).

La forma de propagación de muchas especies vegetales es por semilla; sin embargo, algunas consideradas viables para germinar, son incapaces de germinar, esta característica se denomina latencia, mecanismo de supervivencia a condiciones adversas del clima (temperaturas bajas, alternancias de épocas secas y húmedas y climas desérticos, etc.) lo cual resulta poco ventajoso cuando se pretende cultivarlas (Fuentes, Rodríguez y Rodríguez, 1996 a, b).

La imbibición es el proceso de toma de agua por parte de la semilla, esta se da mediante la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua durante cierto periodo de tiempo. La imbibición permite que un mayor número de semillas alcance rápidamente el mismo nivel de humedad y active el aparato metabólico relacionado con el proceso pregerminativo (Burgas y Powell, 1984).

Las giberelinas están implicadas directamente en el control y promoción de la germinación de las semillas; el ácido

giberélico (AG_3) puede romper la latencia de las semillas y remplazar la necesidad de estímulos ambientales. Las giberelinas empiezan a acumularse rápidamente en los embriones después de 24 horas de imbibición. Estas hormonas estimulan la síntesis de enzimas hidrolíticas, principalmente α -amilasa, en la capa de aleurona (Davies, 2004). Las amilasas degradan el almidón y los productos de la digestión almacenados en la aleurona y el endospermo almidonoso, y luego son movilizados al escutelo para iniciar el crecimiento de las plántulas (Azcón y Talón, 2013).

Del mismo modo, las GA controlan aspectos importantes en el desarrollo de las plantas, actúan como estimulantes del crecimiento al originar plantas de mayor tamaño (Vichiato *et al.*, 2007), aumentan la expansión foliar, la floración y el desarrollo de las semillas (Ogawa *et al.*, 2003). Una de las funciones más importantes de las GA es la promoción del crecimiento del tallo, esto se debe a la inducción de la división celular en el meristemo subapical. La aplicación de GA incrementa el tamaño de la zona meristemática al aumentar el número de células que entran en división celular (Azcón y Talón, 2013; Taiz y Zeiger, 2002). Estas células contribuyen posteriormente a la elongación del tallo, crecimiento de hojas y raíces.

En lo que compete a esta investigación, no existen estudios que relacionen la germinación de semillas de sombrero con hormonas vegetales. Sin embargo, para otras especies existe literatura relacionada. Por ejemplo, Quintana *et al.* (2013) para determinar el efecto de dos reguladores de crecimiento vegetal (ácido giberélico, AG_3 y ácido naftalenacético, ANA) y condiciones de iluminación sobre la germinación de semillas de *Clitoria ternatea*, recomiendan la combinación AG_3 (1 mg/L) y ANA (0,1 mg/L) para estimular su germinación.

En semillas de caoba (*Swietenia macrophylla* King), con inmersión de semillas en ácido giberélico en concentración de 3 ppm durante 24 horas, los resultados muestran un 92 % de germinación y de acuerdo al índice de velocidad, el ácido giberélico y el peróxido de hidrógeno aceleran el proceso germinativo en 21,02 y 22,28 días en promedio y el testigo en 26,07 días (Acosta *et al.*, 2012). Latsague, Sáez y Coronado (2010), en *Myrceugenia exsucca*, para evaluar viabilidad y tratamientos pregerminativos a través de ensayos en condiciones de laboratorio, en semillas tratadas con: inmersión con agua destilada por 24 horas; inmersión en ácido giberélico, 250 mg/L por 12 y 24 horas y estratificación fría a 5 °C por 15 días. Encuentran que estos tratamientos incrementaron la germinación de semillas de *M. exsucca*, siendo el remojo de las semillas en agua destilada por 24 horas el que más favorece la emergencia de la radícula. Otra investigación sugiere que la selección de semilla en *Cordia elaeagnoides* A. DC., con embriones sanos es importante para asegurar un porcentaje alto de germinación, la cual se favorece, preferentemente, con períodos de inmersión de la semilla en ácido giberélico (AG₃) por 24 horas (Santacruz *et al.*, 2014).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes tiempos de imbibición de semillas de sombrero (*C. fairchildiana*), sometidas a distintas concentraciones de hormonas vegetales (auxinas y giberelinas), constituyentes del producto Giber Grop® y determinar su efecto en la germinación de las semillas.

Materiales y métodos:

Material vegetal:

Se utilizaron semillas extraídas de frutos colectados de árboles plantados en los jardines de la Villa Universitaria del Núcleo Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela, que se encuentra a 392,49 msnm.

Para lo cual fue necesario utilizar un descopador. Las vainas o legumbres se colocaron al aire libre para culminar su secado y liberación de semillas, las cuales se almacenaron en envase de plástico a temperatura ambiente y protegidas de la luz hasta el establecimiento del ensayo (2 – 3 meses). La siembra de semillas se hizo en bandejas para germinación, con tierra de textura franco arenosa y fueron mantenidas bajo condiciones a la sombra (sin luz solar directa).

Tratamientos Pre germinativos:

Antes de la siembra en las bandejas, las semillas se sometieron a diferentes tratamientos de inmersión. Las hormonas sintéticas utilizadas fueron a base del producto comercial soluble en agua *Giber Grop*®, el cual contiene auxinas y giberelinas (Ácido alfa-naftalenacético 17,2 % y Giberelina (GA₃) 10 %). Los tratamientos a evaluar fueron:

T₁: Inmersión de semillas en solo agua (testigo, 0 mg/L) durante 24 horas;

T₂: Inmersión de semillas en *Giber Grop*® a 200 mg/L durante 24 horas;

T₃: Inmersión de semillas en *Giber Grop*® a 400 mg/L durante 24 horas;

T₄: Inmersión de semillas en *Giber Grop*® a 600 mg/L durante 24 horas;

T₅: Inmersión de semillas en *Giber Grop*® a 600 mg/L durante 12 horas.

El experimento fue evaluado mediante un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones, cada una contentiva de dieciséis semillas (16), para sesenta y cuatro (64) semillas por tratamiento y un total de trescientas veinte (320) semillas, sembradas a una profundidad de 0,5 cm.

El procedimiento a seguir fue el siguiente:

En un envase plástico limpio, se colocó la cantidad de agua suficiente para cubrir las 64 semillas de cada tratamiento.

Luego se agregaron las hormonas del tratamiento correspondiente y en cada uno de ellos se colocaron las semillas cubiertas completamente por la solución. Posterior al remojo, se extendieron las semillas en un lugar sombreado y se dejaron secar durante 30 minutos, antes de la siembra. Luego de la siembra, el primer riego se hizo con una solución de fungicida (50 gramos de producto comercial en 10 litros de agua). Las bandejas para germinación se mantuvieron a la sombra durante la evaluación del experimento. Mientras las semillas estuvieron en germinación, los riegos con agua se continuaron 2 veces por día.

Variables evaluadas durante la germinación:

Para el procesamiento de los datos se utilizó la metodología propuesta por la FAO (Guía para la Manipulación de Semillas Forestales, 1991). Con un registro diario de semillas germinadas por tratamiento, consistente en el conteo de las plántulas emergidas durante 20 días después de la siembra (DDS). Para efectos prácticos, se consideró que una semilla había germinado al emerger el talluelo de la plántula. La germinación de la primera semilla marca el tiempo T_0 , equivalente al número de días transcurridos entre el momento de la siembra y el comienzo de la germinación y T_{50} , tiempo transcurrido desde la siembra hasta que se alcanza el 50 % de germinación (Rossini *et al.* 2006).

Con estas observaciones se realizaron las determinaciones del número de semillas germinadas acumuladas por tratamiento y los siguientes indicadores indirectos de vigor:

1) Porcentaje de germinación (G %): Referido como porcentaje de germinación diario y acumulado para cada tratamiento, calculado mediante la fórmula:

$$G (\%) = \frac{N^\circ \text{ de semillas germinadas diariamente}}{N^\circ \text{ de semillas puestas a germinar}} \times 100$$

2) Capacidad germinativa (CG): Se refiere a porcentaje de germinación por tratamiento acumulado al final del ensayo. Se calcula mediante la fórmula:

$$\text{Capacidad germinativa (CG \%)} = \frac{N^\circ \text{ de semillas germinadas al final del ensayo}}{N^\circ \text{ de semillas puestas a germinar}} \times 100$$

3) Valor de germinación (VG): Es un valor numérico dado a la germinación que ocurre dentro de un periodo de energía. Se calculó, para cada tratamiento, a través del método de Djavanshir y Pourbeik (1976). La fórmula propuesta por estos autores es la siguiente:

$$VG = ((\sum VGD / N) \times (PG / 100)) \times 10$$

Donde:

VG: Valor de la germinación diario o final

PG: Porcentaje de germinación diario o al final del ensayo

VGD: Velocidad de germinación diaria, que se obtiene dividiendo el porcentaje de germinación acumulado por el número de días transcurridos desde la siembra

$\sum VGD$: Total que se obtienen sumando todas las cifras de VGD obtenidas en los recuentos diarios

N: Número de recuentos diarios, empezando a contar a partir de la fecha de la primera germinación.

El producto de la aplicación del método es adimensional y es un valor absoluto, sea de un número entero o decimal, es el valor numérico sin tener en cuenta si su signo es positivo o negativo. En este caso, cuanto más se acerque al cero esta expresión numérica de la germinación, se considera bajo y cuanto más se aleje de éste, tiende a ser alto y refleja la efectividad del tratamiento pre germinativo (Mendoza y Suarez, 2013).

4) Tiempo medio de germinación (TMG):

Mediante este parámetro se busca medir la velocidad y dispersión de la germinación a través de la expresión:

$$TMG = (T_1 n_1 + T_2 n_2 + \dots + T_n n_n) / N$$

Donde:

T_n = número de días transcurridos desde el inicio de la germinación hasta el día n , n_n = número de semillas germinadas en el día n , y N número total de semillas germinadas.

Análisis de datos:

Los datos se analizaron en un diseño en bloques completos al azar. Los valores porcentuales de germinación se transformaron con la función $\arcsen \sqrt{G} (\%)/100$, transformación utilizada cuando se trata de estudiar proporciones de semillas que germinan (Steel y Torrie, 1985). Para valor de germinación (VG) y el tiempo medio de germinación (TMG), se utilizaron transformaciones logarítmicas, raíz cuadrada e inversa.

Para la estadística descriptiva se utilizó el procedimiento UNIVARIATE, que incluye pruebas estadísticas y valores de “p”, para Shapiro – Wilk (para tamaños de muestra < 2000), además de las pruebas Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises y Anderson-Darling. La homogeneidad de varianzas se hizo por las pruebas de Levene, Brown y Forsythe, utilizando el procedimiento GLM. Sin embargo, al realizar las pruebas

para comprobar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, los datos originales y transformados de germinación (G %), valor de germinación (VG) y tiempo medio de germinación (TMG), no presentaron normalidad y no se ajustaron al modelo. Por esta razón, se recurrió al empleo de pruebas no paramétricas para las tres variables, utilizando el procedimiento NPAR1WAY del programa SAS® 9.1 (2003), con las opciones ANOVA y WILCOXON (prueba de Kruskal-Wallis). Con esta información, se realizaron análisis de dos vías para las tres variables (variables dependientes) y los días después de la siembra y tratamientos, como independientes.

Resultados y discusión

Germinación de la semilla.

Los resultados obtenidos con respecto al comienzo de la germinación (T_0), al número de días requeridos para alcanzar el 50 % de germinación (T_{50}), a la capacidad germinativa acumulada, valores de germinación y tiempo medio de germinación por tratamiento, se encuentran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Número de días necesarios para lograr T_0 y T_{50} , capacidad germinativa promedio, valor de germinación y tiempo medio de germinación por tratamiento.

Tratamientos	Tiempos		Capacidad germinativa (%)	Valor de Germinación final (VG)	Tiempo medio de germinación (TMG)
	T_0	T_{50}			
T_1 : Inmersión en solo agua (0 mg/L) 24 horas	4	6	64,3	45,8	5,47
T_2 : <i>Giber Grop</i> ® (200 mg/L) 24 horas	4	8	49,4	26,9	7,23
T_3 : <i>Giber Grop</i> ® (400 mg/L) 24 horas	4	7	55,2	33,1	6,38
T_4 : <i>Giber Grop</i> ® (600 mg/L) 24 horas	4	6	79,7	65,8	5,68
T_5 : <i>Giber Grop</i> ® (600 mg/L) 12 horas	4	6	77,5	69,6	5,51

T_0 : días para el inicio de la germinación; T_{50} : días para alcanzar el 50 % de germinación

El T_{50} , es un método para comparar la energía de germinación. Consiste en registrar la “tasa de germinación” o el número de días que se necesitan para conseguir el 50 % de la capacidad de germinación. Cuanto más breve sea ese período, tanto mayor será la energía de germinación. Bajo las condiciones del ensayo, prácticamente no existen grandes diferencias en el tiempo T_{50} entre tratamientos, ya que las semillas de los diferentes tratamientos oscilan entre 6 – 8 días. Todo indica que la mayor proporción de la germinación se alcanzó seis días después de iniciada la prueba para los tratamientos de inmersión en agua y Giber Grop® a 600 mg/L (24 y 12 horas de inmersión), logrando el 50 % de germinación antes que los tratamientos con Giber Grop® a 400 y 200 mg/L. Se refleja con esto que a mayor concentración de Giber Grop® se disminuye el tiempo para alcanzar el 50 % de germinación. Si bien las primeras semillas germinadas aparecieron al cuarto día para los diferentes tratamientos, todos los tratamientos alcanzaron 50 % de germinación entre los días 6 y 8 después de la siembra.

Ninguno de los tratamientos alcanzó el 100 % de germinación de semillas. Los tratamientos con Giber Grop® a 600 mg/L lograron los mayores porcentajes de germinación promedio (79,7 – 77,5 %), lo que indicaría la efectividad de este tratamiento hormonal. Los valores porcentuales acumulados (hasta los 20 dds) se presentan en la Figura 1.

Valor de Germinación (VG).

El concepto de valor de germinación, tiene por finalidad combinar en una sola cifra una expresión de la germinación total al término del período de ensayo y una expresión de la energía o velocidad de germinación (Czabator, 1962). El valor de germinación determina el momento ideal de culminación del experimento, indicando que el valor máximo debería tomarse como valor de decisión (Djavanshir y Pourbeik, 1976). Si se calcula su valor diariamente desde el comienzo del experimento, se desarrolla una curva basada en Valor de germinación vs. día (Figura 2), en la que se observa una tendencia general de incrementos diarios en el valor de germinación para cada tratamiento, tendencia

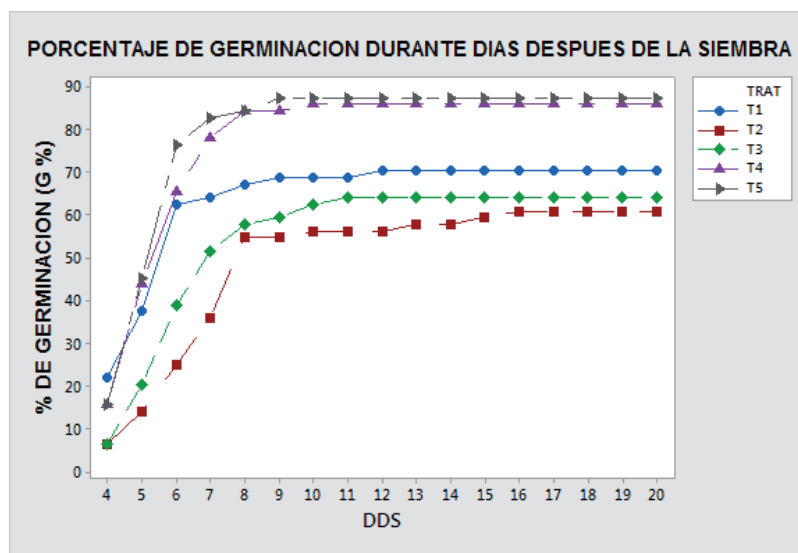


Figura 1. Porcentajes de germinación acumulada por tratamiento durante los días después de la siembra.

que continua hasta alcanzar un valor máximo en cada tratamiento, que luego comienza a disminuir a consecuencia de la disminución de la tasa de germinación, si se compara con el inicio de la germinación, tiempo en el que se obtiene mayor germinación.

En la Figura 2 se observa que los tratamientos que alcanzan mayores valores de germinación corresponden a tratamientos con Giber Grop® 600 mg/L (24 – 12 horas de inmersión). Es decir, el tratamiento de inmersión en Giber Grop® 600 mg/L durante 24 horas, obtuvo un valor de germinación el día 10 de 77,7 %, mientras que el tratamiento de inmersión en Giber Grop® 600 mg/L durante 12 horas obtuvo un valor de germinación el día 9 de 84,36 %. A partir de estos valores comienza la disminución de los valores de germinación (Cuadro 2). Estos valores reflejan la efectividad de ambos tratamientos pregerminativos (Giber Grop® 600 mg/L, 24 y 12 horas de inmersión), sugiriendo que el tratamiento de inmersión en Grop® 600 mg/L, durante 12 horas es más efectivo.

Los valores de germinación se han correlacionado con experimentos que determinan los porcentajes de sobrevivencia de plántulas en el campo, determinando que los valores obtenidos por esta fórmula, son muy similares con los porcentajes de sobrevivencia de las plántulas (Djavanshir y Pourbeik, 1976). En nuestro caso, de confirmarse esta observación, los tratamientos con Giber Grop® 600 mg/L (12 y 24 horas de inmersión) tendrían sobrevivencias cercanas al 80 %.

Tiempo medio de germinación (TMG).

El tiempo medio de germinación se refiere al tiempo que las semillas necesitan para germinar o emerger el talluelo de la plántula del sustrato. Esto nos indica que los tratamientos con menor tiempo de germinación corresponden a los tratamientos inmersión de semillas en solo agua y en Giber Grop® a 600 mg/L (12 horas), promediando ambos tratamientos 5,5 días para germinar. El tratamiento más tardío corresponde a inmersión de semillas en Giber Grop® a 200

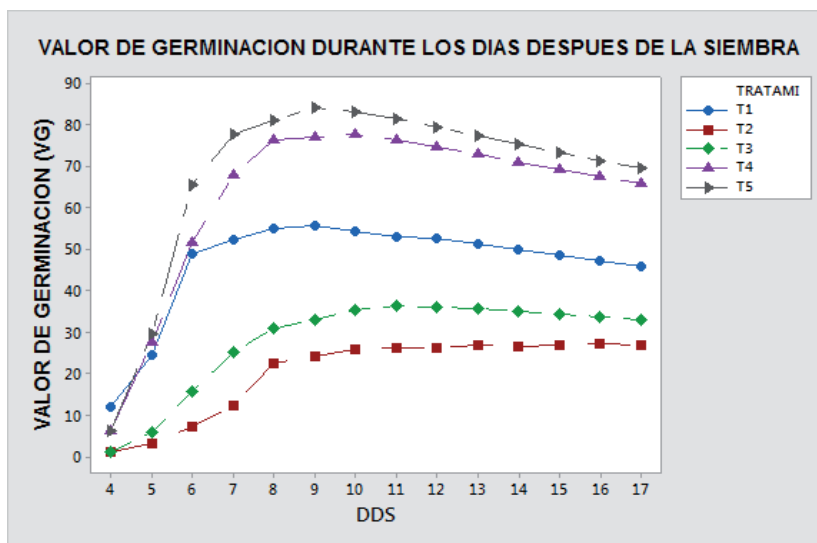


Figura 2. Valor de germinación por tratamiento durante los días después de la siembra.

Cuadro 2. Valor de germinación por tratamiento y día.

DDS	Valor de germinación por tratamiento				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
4	11,98	0,98	0,98	6,11	6,11
5	24,36	3,08	5,71	27,7	29,41
6	48,77	7,12	15,78	51,66	65,7
7	52,17	18,7	25,16	67,9	77,77
8	55,04	22,42	30,93	76,46	81,17
9	55,7	24,22	33,01	76,96	84,36
10	54,46	25,87	35,31	77,7	83,22
11	54,29	26,26	36,39	76,41	81,56
12	52,81	26,32	36,13	74,69	79,55
13	51,26	26,88	35,68	72,97	77,53
14	49,86	26,59	35,1	71,08	75,43
15	48,45	27,01	34,46	69,28	73,42
16	47,11	27,35	33,76	67,47	71,41
17	45,85	26,93	33,12	65,84	69,57

T₁: inmersión de semillas en agua (24 horas); T₂: inmersión de semillas en Giber Grop® a 200 mg/L(24 horas); T₃: inmersión de semillas en Giber Grop® a 400 mg/L(24 horas); T₄: inmersión de semillas en Giber Grop® a 600 mg/L(24 horas); T₅: inmersión de semillas en Giber Grop® a 600 mg/L(12 horas).

Cuadro 3. Tiempo medio de germinación por tratamiento y día.

DDS	Tiempo medio de germinación por tratamiento				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
4	1,24	0,41	0,39	0,73	0,71
5	2,35	1,05	1,49	2,37	2,41
6	4,48	2,13	3,25	3,9	4,55
7	4,64	3,39	4,62	4,92	5,05
8	5	5,85	5,4	5,5	5,19
9	5,2	5,85	5,62	5,5	5,51
10	5,2	6,11	6,11	5,68	5,51
11	5,2	6,11	6,38	5,68	5,51
12	5,47	6,11	6,38	5,68	5,51
13	5,47	6,44	6,38	5,68	5,51
14	5,47	6,44	6,38	5,68	5,51
15	5,47	6,82	6,38	5,68	5,51
16	5,47	7,23	6,38	5,68	5,51
17	5,47	7,23	6,38	5,68	5,51

T₁: Inmersión de semillas en solo agua (24 horas); T₂: Inmersión de semillas en Giber Grop® a 200 mg/L (24 horas); T₃: Inmersión de semillas en Giber Grop® a 400 mg/L (24 horas); T₄: Inmersión de semillas en Giber Grop® a 600 mg/L (24 horas); T₅: Inmersión de semillas en Giber Grop® a 600 mg/L (12 horas).

mg/L, con un tiempo medio de germinación de 7,23 días (Cuadro 3, Figura 3).

Según Bewley (1997) las giberelinas aceleran el proceso de germinación, sin

embargo, en este experimento el efecto positivo de las giberelinas sobre la germinación no fue del todo positivo. Esta respuesta pudo deberse a un tiempo de imbibición muy largo para este tipo de semillas.

Lo que coincide con Amador *et al.*, (2013) quienes encontraron que en semillas de *Ferocactus histrix* con la aplicación de ácido giberélico a 125, 250 y 500 mg/L presentaron tiempos de germinación de 9 a 15 días.

La germinación de las semillas de *C. fairchildiana* parece estar influenciada por el color de las semillas y la temperatura ambiente. De esta manera, Alves *et al.* (2013), encuentran los mayores porcentajes de germinación con semillas de tegumento marrón a diferencia del claro, para todos los regímenes de temperatura. Observaron que, a temperaturas de 35 °C, independientemente de la coloración del tegumento, se presentaron los menores porcentajes de germinación. Concluyen que las semillas de coloración marrón son de mejor calidad fisiológica, probablemente por haber recibido mayor cantidad de fotoasimilados durante la fase de formación, ya que en un mismo fruto todas las semillas tenían la misma coloración. El color marrón fue seleccionado en nuestra investigación, ya que eran semillas de mayor tamaño.

También constataron que las temperaturas más favorables fueron temperaturas constantes de 25 y 30 °C, que condujeron a mayores porcentajes de germinación. Es de destacar que estas características no fueron previstas en la presente investigación, ya que la investigación se desarrolló al aire libre (condiciones naturales a la sombra).

En otra investigación, Alves *et al.* (2012) con *C. fairchildiana*, constataron que, en condiciones de oscuridad y temperaturas de 25°C, la germinación fue significativamente inferior, infiriendo que las semillas de esta especie consiguen germinar en amplias condiciones de luminosidad y temperatura, lo que les confiere una gran capacidad de adaptación. Sugieren que esta indiferencia en cuanto a la presencia de luz, permite clasificar las semillas de *C. fairchildiana* como fotoblásticas neutras. Esta condición pudiera resultar favorable para semillas que germinan en condiciones naturales (sotobosque o lugares abiertos).

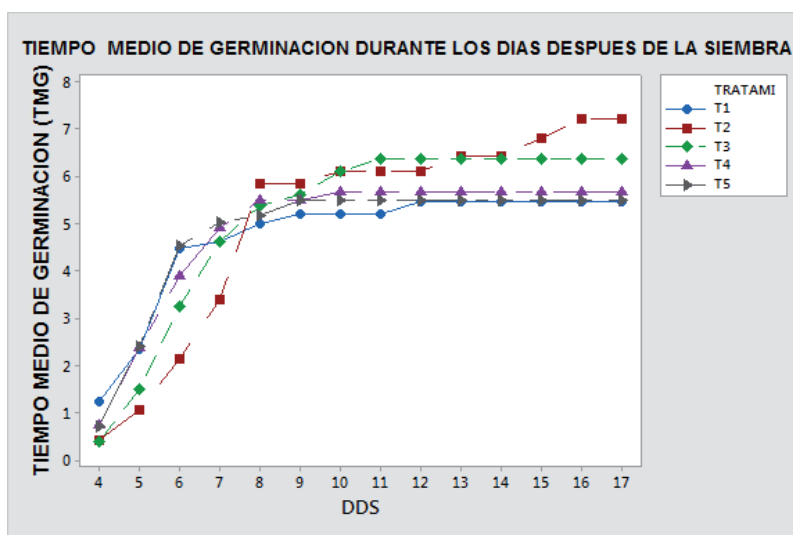


Figura 3. Tiempo medio de germinación por tratamiento durante los días después de la siembra.

Sin embargo, Quintana *et al.* (2013) en semillas conservadas de *Clitoria ternatea* para determinar el efecto de dos reguladores de crecimiento vegetal (ácido giberélico, AG₃ y ácido naftalenacético, ANA) sobre la germinación de semillas bajo ciertas condiciones de iluminación, con las combinaciones: Control (sin reguladores del crecimiento), 0,5 mg/L AG₃, 1 mg/L AG₃, 1 mg/L AG₃ + 0,1 mg/L ANA y 0,1 mg/L ANA, comprobaron que la adición de estos reguladores de crecimiento vegetal tuvieron efecto en el incremento de la germinación, no así las condiciones de iluminación probadas (fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad y período inicial de seis días de oscuridad, seguido de similar fotoperiodo). Recomiendan la combinación AG₃ (1 mg/L) y ANA (0,1 mg/L) para estimular su germinación.

Análisis no paramétrico (NPAR1WAY)

Análisis de varianza de las pruebas no paramétricas de porcentaje de germinación (G %) clasificados por las variables días después de la siembra y tratamientos.

El procedimiento NPAR1WAY prueba la hipótesis nula que no existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre los días después de la siembra (DDS) y los tratamientos (TRATAMI), contra la hipótesis alternativa que el porcentaje de germinación difiere para ambas variables.

El Cuadro 4 se produce con la opción de ANOVA. Para cada día después de la siembra y tratamiento, PROC NPAR1WAY muestra un análisis de varianza estándar de los datos en bruto, originando los mismos resultados que los procedimientos ANOVA y GLM. Entre los días después de la siembra (DDS) y entre tratamientos, el valor de p para la prueba F es < 0,0001, que indica que los dds y los tratamientos, representan una porción altamente significativa de la variabilidad en la variable dependiente porcentaje de germinación.

La opción de WILCOXON produce la salida del Cuadro 5, en el que se indica el estadístico ANOVA unidireccional, que para las puntuaciones de Wilcoxon se conoce como la prueba de Kruskal-Wallis.

Cuadro 4. Análisis de varianza de las pruebas no paramétricas para valores de porcentaje de germinación (G %) clasificados por días después de la siembra y tratamientos

Variable	Fuente de variación	GL	SC	CM	F	Pr > F	
G (%)	DDS	Entre	16	23573,23	1473,33	7,53	< 0,0001**
		Dentro	68	13291,14	195,45		
	TRATAMI	Entre	4	12150,31	3037,58	9,83	< 0,0001**
		Dentro	80	24714,06	308,93		

**Altamente significativo; G: Porcentaje de germinación (%); DDS: Días después de la siembra; TRATAMI: Tratamientos

Cuadro 5. Prueba de Wilcoxon (Kruskal - Wallis) para valores de porcentajes de germinación (G %) clasificados por días después de la siembra y tratamientos

Variable	Fuente de variación	Chi cuadrada	GL	Pr > Chi cuadrada
G (%)	DDS	31,29	16	0,0124*
	TRATAMI	47,16	4	< 0,0001**

**Altamente significativo; * Significativo al 5%; G: Porcentaje de germinación (%); DDS: Días después de la siembra; TRATAMI: Tratamientos

Para el caso de los días después de la siembra, la estadística es igual a 31,29, con dieciséis grados de libertad, que es el número de dds, menos uno. El valor de p es $< 0,0124$. Esto conduce al rechazo de la hipótesis nula que no existe ninguna diferencia para porcentaje de germinación en los diecisiete días de evaluación y se concluye que los diecisiete días de evaluación de la germinación, no son todos iguales.

En relación a la prueba de Wilcoxon para tratamientos, la estadística de Chi cuadrado es igual a 47,16, con cuatro grados de libertad (número de tratamientos, menos uno). El valor de p o probabilidad de una estadística mayor bajo la hipótesis nula, es $< 0,0001$, el cual también conduce al rechazo de la hipótesis nula que no existe ninguna diferencia para porcentaje de germinación entre tratamientos. Esta prueba también concluye que los tratamientos pregerminativos aplicados para mejorar la germinación, no son todos iguales. Es decir; al menos uno de los tratamientos tiene media distinta a los otros.

Análisis de varianza de las pruebas no paramétricas de valor de germinación (VG) y tiempo medio de germinación (TMG) clasificados por las variables días después de la siembra y tratamientos.

A semejanza del análisis anterior, acá se prueban las hipótesis nulas que no existen diferencias significativas en el valor de germinación (VG) y tiempo medio de germinación (TMG) entre los días después de la siembra (DDS) y los tratamientos (TRATAMI), contra las hipótesis alternativas que el valor de germinación y tiempo medio de germinación, difiere entre ambas variables (Cuadro 6).

Se observa en el Cuadro 6, que para el valor de germinación (VG) entre los días después de la siembra (DDS), se presentan diferencias significativas, con un valor de $p = 0,0146$ para la prueba F, indicando que existe significancia al nivel de $\alpha < 0,05$. Entre tratamientos existen diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$), lo que sugiere que los DDS y los tratamientos, son significativamente variables en los valores de germinación. En relación al tiempo medio de germinación (TMG), la mayor significancia se presenta entre los días después de la siembra ($p < 0,0001$), lo que sugiere alta variabilidad entre ellos. Al analizar la variabilidad entre tratamientos, ocurre que no existen diferencias significativas, explicable por el bajo rango (1,32 días) entre el tratamiento que obtiene el mayor tiempo medio de germinación ($T_2 = 7,23$ días) y el tratamiento que obtiene el menor tiempo medio de germinación ($T_1 = 5,47$ días).

Cuadro 6. Análisis de varianza de las pruebas no paramétricas para valor de germinación (VG) y tiempo medio de germinación (TMG) clasificados por días después de la siembra y tratamientos.

Variable	Fuente de variación	GL	SC	CM	F	Pr > F	
VG	DDS	Entre	13	14870,64	1143,89	2,33	0,0146 *
		Dentro	56	27456,39	490,29		
	TRATAMI	Entre	4	24820,63	6205,16	23,03	<0,0001**
		Dentro	65	17506,40	269,33		
TMG	DDS	Entre	13	184,42	14,19	43,23	<0,0001**
		Dentro	56	18,38	0,33		
	TRATAMI	Entre	4	1,57	0,39	0,127	<0,9721 ^{NS}
		Dentro	65	201,22	3,09		

**Altamente significativo; * Significativo al 5%; NS: No significativo; VG: Valor de germinación; TMG: Tiempo medio de germinación; DDS: Días después de la siembra; TRATAMI: Tratamientos

La prueba de Kruskal-Wallis para valor de germinación y tiempo medio de germinación entre los días después de la siembra y tratamientos, conduce al rechazo de las hipótesis nulas que no existe ninguna diferencia para valor de germinación y tiempo medio de germinación en los diecisiete días de evaluación y los cinco tratamientos evaluados, lo cual demuestra que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que los diecisiete días de evaluación de la germinación y los cinco tratamientos pregerminativos, aplicados para mejorar la germinación, no son todos iguales, es decir qué, al menos uno de los tratamientos y días de evaluación tiene media distinta a los otros (Cuadro 7).

Se conocen algunas experiencias contradictorias sobre el uso de hormonas vegetales en germinación de semillas de plantas arbóreas y arbustivas, de interés para la conservación de los ecosistemas naturales. Por ejemplo, Rodríguez *et al.* (2016), indican que FLU, un inhibidor de la síntesis de ABA, fue el más eficaz en romper la dormancia de *Ugni molinae* Turcz., Myrtaceae nativa de Chile. La combinación de 10 µM de FLU con BAP o GA₃ mejoraron la germinación, siendo FLU + GA₃ la más óptima, la cual fue capaz de elevar la germinación de 34% en el testigo a 96% a los 60 días.

Orantes *et al.* (2013), en una investigación sobre viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas (*Cordia*

alliodora, *Terminalia amazonia* y *Bursera bipinnata*), encuentran diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$) para la germinación acumulada, observando que las semillas de las tres especies pueden acelerar su tiempo de emergencia con la aplicación de ácido giberélico (300 ppm de ingrediente activo, durante un remojo de 12 horas) y escarificación. Esta investigación concluye en que los tratamientos pregerminativos favorecen la germinación, ya que sin ellos el porcentaje de germinación disminuye (*B. bipinnata*, 63 %, *C. alliodora*, 62 % y *T. amazonia*, 54 %). Encuentran además, que la aplicación de ácido giberélico promovió que las semillas de las tres especies germinaran más rápido (44,7 días en promedio para *T. amazonia*, 32,5 para *C. alliodora* y 41,5 para *B. bipinnata*) en comparación con el testigo (*T. amazonia* germino en 67,3 días, *C. alliodora* en 46,0 y *B. bipinnata* en 61,8 días). Estos resultados difieren en gran medida con los de la presente investigación, donde el periodo total de germinación es más corto.

Guzmán, Cruz y Miranda (2013), al evaluar tratamientos pregerminativos de inmersión durante 1 – 2 horas en ácido sulfúrico y GA₃ (500 – 1000 ppm) para romper la latencia del endocarpio en *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth (Malpighiaceae) y lograr un alto y más uniforme porcentaje de germinación, obtienen diferencias estadísticas altamente significativas entre

Cuadro 7. Prueba de Wilcoxon (Kruskal - Wallis) para valor de germinación (VG) y tiempo medio de germinación (TMG) clasificados por días después de la siembra y tratamientos

Variable	Fuente de variación	Chi cuadrada	GL	Pr > Chi cuadrada
VG	DDS	23,16	13	0,0397 *
	TRATAMI	40,27	4	< 0,0001 **
TMG	DDS	47,77	13	< 0,0001 **
	TRATAMI	12,07	4	0,0168 *

**Altamente significativo; * Significativo al 5%; VG: Valor de germinación; TMG: Tiempo medio de germinación; DDS: Días después de la siembra; TRATAMI: Tratamientos

los tratamientos ($\alpha \leq 0,01$), en las que el mejor resultado se alcanzó con la aplicación de H_2SO_4 , 2 h + AG_3 1000 ppm, 2 h, con un porcentaje de germinación de $51,2 \pm 4,7$; el testigo alcanzó el porcentaje más bajo ($3,0 \pm 1,5$).

Estos resultados concuerdan con la presente investigación, en la cual se obtiene que al comparar el tratamiento de inmersión en agua con los tratamientos de *Giber Grop®* a 600 mg/L, estos favorecen la germinación con mayores porcentajes de germinación promedio (79,7 – 77,5 %) a diferencia del tratamiento de inmersión en agua (64,3 %).

Estas investigaciones coinciden con Salisbury y Ross (2000), quienes indican que el ácido giberélico tiene propiedades estimulantes de germinación, además de favorecer la elongación y emergencia de la radícula a través del endospermo, la cubierta seminal o la cubierta del fruto que restringen su crecimiento, además de producir enzimas hidrolíticas durante la germinación.

Por otra parte, Amador *et al.* (2013), evaluando el efecto de la adición de tres reguladores de crecimiento vegetal (AIA, ANA y GA_3), a diferentes concentraciones (125, 250, 500 ppm) sobre la respuesta germinativa y crecimiento de plántulas en las especies *Ferocactus histrix* y *F. latispinus* (Cactaceae), encuentran que estos reguladores a estas concentraciones, no incrementan de manera significativa la germinación de semillas y tampoco favorecen el crecimiento de plántulas, ya que las plántulas más vigorosas se obtuvieron con el control (agua destilada).

Así mismo, Latsague, Sáez y Coronado (2010) con *Myrceugenia exsucca* (Myrtaceae), para evaluar viabilidad y tratamientos pregerminativos de semillas bajo condiciones de laboratorio, utilizando

tratamientos de remojo de las semillas con agua destilada por 24 h; inmersión en ácido giberélico, 250 mg/L por 12 h; remojo en ácido giberélico, 250 mg/L por 24 h y estratificación fría a 5 °C por 15 días, encuentran que en los dos últimos tratamientos la germinación fue nula. Entre los tratamientos germinados, la inmersión con agua destilada por 24 h presentó mayor germinación que el tratamiento control ($P < 0,05$). Los valores más bajos se obtuvieron en el tratamiento con ácido giberélico por 12 h. Sin embargo, este tratamiento presentó el valor más alto de velocidad germinativa, presentando diferencias significativas con el tratamiento control y remojo con agua por 24 h ($P < 0,05$).

Conclusiones

Los tratamientos extremos (solo agua y las concentraciones más altas de *Giber Grop®*) incidieron favorablemente en los parámetros de germinación: porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG) y valor de germinación (VG). Es una especie que responde bien a los tratamientos de inmersión en solo agua, por lo cual el potencial hídrico del suelo jugaría un papel importante como factor de ruptura de latencia, estimulando la germinación de las semillas en ambientes naturales.

C. fairchildiana es una especie que respondió por igual a los tratamientos aplicados para activar el embrión e iniciar la germinación. Los parámetros para evaluar la germinación sugieren que pueden resultar afectados por alguna interacción entre condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa, etc.) y tratamiento aplicado. Indicado por el hecho de que la germinación mejora con tratamientos extremos (solo agua y altas concentraciones de *Giber Grop®*), en comparación con tratamientos intermedios, ya que la imbibición de las

semillas en GiberGrop® (200 – 400 mg/L) durante 24 horas, afectó negativamente el proceso de germinación, obteniendo menores porcentajes de germinación y valores de germinación, así como mayor tiempo medio de germinación. En comparación a ambos tratamientos, el porcentaje de germinación se vio afectado positivamente con la imbibición de las semillas con la dosis de 0 mg/L (solo agua). Este tratamiento obtuvo el menor tiempo medio de germinación.

El uso de Giber Grop® a 600 mg/L (12 y 24 horas) favorece la germinación en 13 – 15 %, en relación al tratamiento testigo (solo agua), lo cual conduce a decidir sobre la viabilidad de este producto en la germinación de semillas de *C. fairchildiana*. Por todo lo anterior, sería necesario investigar con tratamientos de inmersión de semillas en agua con mayores tiempos de inmersión (≥ 24 horas).

Agradecimientos

El autor agradece al Departamento de Biología y Química del NURR – ULA por el uso de sus equipos de laboratorio y a los revisores anónimos, por su interés en mejorar la calidad del manuscrito.

Referencias bibliográficas

- Acosta R., Mendizábal L., Alba J., Alderete A. y Landero N. 2012. Variación de semillas y germinación de *Swietenia macrophylla* King de tres procedencias del estado de Tabasco, México. *Foresta Veracruzana* 14 (1):35-42.
- Alves M, Alves E, Bruno R, Da Silva K, Barrozo L, Santos S y Cardoso E. 2013. Germinação e vigor de sementes de *Clitoria fairchildiana* Howard (Fabaceae) em função da coloração do tegumento e temperaturas. *Biosci. J., Uberlândia*, 29 (1): 216-223.
- Alves M, Alves E, Bruno R, Da Silva K, Santos S, Barrozo L y Rodríguez L. 2012. Potencial fisiológico de sementes de *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. – Fabaceae submetidas a diferentes regimes de luz e temperatura. *Ciência Rural*, 42 (12): 2199-2205.
- Amador K, Díaz J, Loza S. y Bivián E. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). *Polibotanica*, 35:109 – 131.
- Aristeguieta L. 1973. Familias y géneros de los árboles de Venezuela. Instituto Botánico, Dirección de Recursos Naturales Renovables, Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela. 845 p.
- Azcón J y Talón M. 2013. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Segunda Edición. McGraw-Hill - Interamericana de España, S. L., Madrid, España. 651 p.
- Bewley J. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*. 9: 1055-1066.
- Burgas R y Powell A. 1984. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. *Ann. Bot.* 53, 753-757.
- Czabator F. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *For. Sci.* 8 (4): 386 – 396.
- Davies P. 2004. Plants hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London. 750 p.
- Djavanshir K y Pourbeik H. 1976. Germination value. A new formula. *Silvae Genetics* 25 (2): 79 - 83.
- Fuentes F, Rodríguez M y Rodríguez F. 1996a. Acerca de la propagación de *Ocimum gratissimum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 1(1):3-7.
- Fuentes F, Rodríguez M y Rodríguez F. 1996b. Sobre la germinación de *Stephania rotunda* Lour. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 1(2):11-14.
- Guzmán A, Cruz E y Miranda C. 2013. Germinación de semillas de *Byrsonima*

- crassifolia* (L.) Kunth. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4 (20): 82-89
- Hoyos J. 1979. Los arboles de Caracas. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Monografía num. 24. Segunda edición. Caracas, Venezuela. 381 p.
- Latsague M, Sáez P y Coronado L. 2010. Tratamientos pregerminativos para *Myrceugenia exsucca* (Myrtaceae), *Bosque* 31(3): 243-246.
- Lorenzi H. 2002. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil. 2.ed. São Paulo: Nova Odessa. 368p.
- Mendoza O y Suárez S. 2013. Evaluación del comportamiento de Falso roble (*Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.), Genízaro (*Phitecellobium saman* (Jacq.) Benth.) y Guanacaste negro (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.) en ensayo de germinación y sembrados en dos tipos de sustrato orgánico Trabajo de Grado Ingeniero Forestal, Universidad Nacional Agraria, Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente, Managua, Nicaragua.
- Ogawa M, Hanada A, Yamauchi Y, Kuwahara A, Kamiya Y y Yamaguchi S. 2003. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *PlantCell* 15: 1591-1604.
- Orantes C, Pérez M, Rioja T y Garrido E. 2013. Viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas nativas de la selva tropical, Chiapas, México, *Polibotanica*, 36: 117-127.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos. Compilado por R. L. Willan para el Centro de Semillas Forestales de Danida.
- Quintana M., Capote A., Nápoles J., Álvarez O., Ramos Y., Bécquer C. y Galdo Y. 2013. Efecto de dos reguladores de crecimiento y condiciones de iluminación en la germinación de semillas conservadas de *Clitoria ternatea*. *Biotechnología Vegetal* 13 (2): 113 - 119
- Rodríguez M, Hormazábal N, Araneda X, Tampe J, Lobos V y Castillo C. 2016. Efectos del ácido giberélico, bencilaminopurina y fluridona en la germinación in vitro de *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae). *Gayana Bot.* 73(1): 77-84.
- Rossini O, Valdés B, Andrés M, Márquez C y Bueso L. 2006. Germinación de las semillas en algunas especies americanas de Fabaceae y Bignoniaceae cultivadas en Sevilla (SO España). *Lagascalía* 26:119-129.
- Salisbury F y Ross C. 2000. Fisiología Vegetal. Paraninfo Thomson learning. España. 988 p.
- Santacruz F, Castañeda J, Gaspar A, Núñez N y Mora A. 2014. Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación in vitro de *Cordia elaeagnoides* A. DC. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5 (25): 84-97.
- SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT Guide for personal computers, version 9.1 edition. Ed. SAS Institute, Cary, NC. U S A.
- Steel R y Torrie J. 1985. Bioestadística. Principios y procedimientos. Segunda edición, Editorial McGraw – Hill Latinoamericana, Bogotá, Colombia. 622 p.
- Taiz L y Zeiger E. 2002. Plant physiology. 3rd ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, MA. 623 p.
- Vichiato M, Vichiato M, Castro D, Dutra L y Pasqual M. 2007. Alongamento de plantas de *Dendrobium nobile* Lindl. compulverização de ácido giberélico. *Ciênc. Agrotec.* 31(1): 16-20.