

## La germinación de *Sesbania emerus* (Fabaceae): efecto de la inmersión en ácido sulfúrico

Maritza Guerrero y Jorge Herrera

Centro para Investigaciones en Granos y Semillas. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

(Rec. 24-IX-1993. Acep. 26-IV-1994)

**Abstract:** Seeds of *Sesbania emerus* harvested yearly (1989-1992) were stored at 21°C until 1992, when this experiment was done by separating brown and gray seeds. Immersion treatments with and without sulfuric acid for 20 min were carried out to interrupt seed dormancy. Gray seeds had higher germination values when treated with acid; on the contrary, no effect was noticed in brown seeds. Hipocotyl length and seedling dry weight were useful in determining vigor, except in brown seeds treated with acid, that show no decreasing values with age.

**Key words:** *Sesbania emerus*, seed germination, seed dormancy, seed dimorphism, seed scarification

Algunas plantas poseen variaciones de tamaño, forma y/o color en el fruto o en la semilla, lo cual da mejor oportunidad a una eficiente dispersión de las semillas y por ende una mayor probabilidad de germinación y supervivencia de la especie (Thompson & Stewart 1981, Abrahamson & Caswell 1982, ). En las semillas también se presentan diferencias fisiológicas que favorecen la dispersión escalonada. Esta estrategia reproductiva está adaptada a condiciones impredecibles, para incrementar el número de sitios seguros para la supervivencia en el espacio y en el tiempo (Venable & Levin 1985, Venable *et al.* 1987). Los tipos diferentes de semillas pueden desempeñar distintas funciones competitivas como el tiempo de emergencia, tasa de crecimiento (Venable & Levin 1985) y otras características ligadas al vigor, el cual define Copeland (1976) como condiciones intrínsecas de la semilla que le permiten germinar y crecer rápidamente al ser plantada en una amplia gama de condiciones ambientales. Así, el dimorfismo en las semillas parece afectar una variedad de funciones de las plantas. Esto

tiene gran importancia pues evita la germinación cuando las condiciones climáticas no son óptimas.

Muchas especies no germinan en altas proporciones inmediatamente después de la cosecha, aunque las condiciones de luz, humedad y temperatura sean adecuadas (Quinlivan 1971, Bewley y Black 1982), lo cual indica la presencia de un reposo obligatorio, la duración e intensidad del cual varía con la especie y las condiciones ecológicas presentes durante el desarrollo de la semilla. Las razones del reposo pueden ser variadas; las principales son: que el embrión esté inmaduro, que la cubierta sea impermeable al agua o a los gases, y la presencia de inhibidores. Sin embargo, más que la presencia, se señala como de gran importancia el balance entre reguladores del crecimiento tales como citoquininas, auxinas y giberelinas, ya sea en la cubierta o en el embrión (Villiers 1972, Bewley y Black 1982).

La efectividad de un tratamiento para superar el reposo y promover la germinación depende del tipo de barrera presente en la semi-

lla, del genotipo y del estado de madurez. El centro de origen de la especie, en relación con las condiciones ambientales donde se desarrolla, puede sugerir procedimientos adecuados para estimular la germinación (Gaspar *et al.* 1975, Atwater 1980). En general, los tratamientos a utilizar pueden clasificarse como físicos o químicos y entre estos últimos se encuentra el uso de sustancias reguladoras del crecimiento (Amen 1968).

En los casos en que el reposo está impuesto por la cubierta, el embrión permanecerá inactivo únicamente mientras esté aislado del exterior. Entre los tratamientos físicos más comunes se encuentra la perforación, abrasión (escarificación) o aún la exposición al ácido sulfúrico concentrado (Bewley y Black 1982). Por supuesto, en muchos casos no es un sólo factor el que ocasiona el reposo, sino una combinación de dos o más factores asociados.

No se ha encontrado literatura específicamente referida a las características fisiológicas de las semillas de *S. emerus* con respecto al reposo. Sin embargo, Rarivoson (1987) encontró que podía aumentar la germinación de *S. rostrata* hasta 60% sumergiéndola en ácido sulfúrico por 150 min, mientras que la escarificación con arena no superó 40%. Sheelavantar *et al.* (1989), trabajando en esta misma especie, encontraron que sumergir las semillas en agua a 98°C por 75 s aumentó la germinación hasta 78%.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de tratamientos con y sin ácido sulfúrico sobre semillas de *Sesbania emerus* con varias coloraciones de la cubierta y con varias edades.

## MATERIAL Y METODOS

*Sesbania emerus* crece en condiciones naturales en el Refugio de Fauna Silvestre Rafael L. Rodríguez en Palo Verde, Bagaces, Guanacaste. El Refugio presenta dos estaciones climáticas bien definidas, la seca y la lluviosa. La cosecha de la semilla se realizó de un número indeterminado de plantas durante la época seca de los años 1989, 1990, 1991 y 1992; tomadas de una parcela de aproximadamente 20 m de lado, marcada dentro de la laguna, por lo cual las plantas crecieron en condiciones inundadas. La semilla se mezcló y se homogenizó de manera que se pudiera trabajar con una muestra representativa de la población.

Después se secó a 20°C y 45% de humedad relativa hasta que alcanzó 10% de humedad y se almacenó a 21°C en bolsas de polietileno. El trabajo se llevó a cabo en 1992.

Se realizó una prueba preliminar de germinación en semillas con edades diferentes, se determinó que las semillas grises tienen un reposo más fuerte que las pardas. Esto motivó una serie de experimentos cuyo objetivo fue superar esta condición. Los resultados de estas evaluaciones permitieron determinar que las semillas grises sumergidas por períodos crecientes en ácido sulfúrico aumentaban significativamente su germinación (Guerrero y Herrera, en prep.). Debido a lo anterior, se decidió hacer un trabajo específico en el que un tratamiento de efectividad comprobada, como lo fue la inmersión en ácido sulfúrico concentrado por 20 min. Se evaluó en semillas de ambos fenotipos (pardas y grises) con diferente edad, cosechadas entre 1989 y 1992. Después de tratadas, las semillas se colocaron a 30°C y 98% de humedad relativa en una cámara de germinación con un fotoperíodo de 12 hr. Se evaluó el porcentaje de germinación, la longitud del hipocótilo de 10 plántulas y el peso seco de 100 plántulas. Las evaluaciones se realizaron cinco días después de la siembra. Los tratamientos se hicieron en cuatro repeticiones de 100 semillas. El análisis de los resultados se hizo de acuerdo con diseño irrestricto al azar, en un arreglo factorial de 2 X 2 X 4 X 2, que corresponden a colores de la cubierta, niveles de ácido (con y sin H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), años de almacenamiento y repeticiones. Se realizó una prueba de Tukey para determinar la separación de medias.

## RESULTADOS

La aplicación de ácido sulfúrico incrementó ( $\alpha = 0.01$ ) la germinación de la semilla, de 29% a 68%. Resultados similares se obtuvieron con los años de almacenamiento (Cuadro 1), en que se encontró que los valores mayores se produjeron después de 2 y 3 años (68 y 73% respectivamente). No se encontraron diferencias estadísticas en la germinación de las semillas almacenadas por 1 y 4 años (20 y 32% respectivamente).

Las interacciones entre la inmersión en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y los años de almacenamiento y la inmersión en ácido y el color de las semillas

CUADRO 1

Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la germinación de la semilla y el peso seco de plántulas de *Sesbania emerus*

Años de almacenamiento	Germinación	Peso seco
0	20.9a*	32.6b
1	68.6 b	29.2b
2	73.6 b	28.6 ab
3	32.5a	17.1 a

\* Valores seguidos de igual letra en una columna no difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

resultaron altamente significativas ( $a = 0.01$ ) (Fig. 1). La inmersión en ácido sulfúrico incrementó notablemente la germinación en las semillas grises. Estas semillas, cuando no fueron tratadas con ácido, tuvieron muy baja germinación, alcanzando un máximo de 17% en los años evaluados, mientras que las semillas sumergidas en ácido superaron el 76% de germinación. Por su parte, las semillas pardas únicamente alcanzaron un máximo de 83% con la semilla de 1990 (dos años de almacenamiento) y lo lograron con y sin tratamiento de ácido sulfúrico. En esta misma semilla, pero cosechada en 1989 (tres años de almacenamiento) se detectó un brusco descenso en la germinación, tanto de la semilla tratada como de la no tratada. En forma general, se observó en semillas pardas que el tratamiento con ácido no afectó positiva o negativamente la germinación. También se encontró que las semillas de ambas coloraciones, independientemente de si fueron tratadas, alcanzaron su máxima germinación en el año 1990, o sea con dos años de almacenamiento.

La longitud del hipocótilo fue mayor ( $a = 0.05$ ) en las plántulas provenientes de semillas tratadas con  $H_2SO_4$  (3.4 cm de longitud) que en las provenientes de no tratadas (2.6 cm de longitud). La interacción entre coloración de la cubierta y el tratamiento con ácido (Fig. 2) fue significativa ( $a = 0.05$ ), de manera que la longitud de las plántulas provenientes de semillas pardas se incrementó fuertemente cuando se trataron con  $H_2SO_4$ , mientras que en grises la respuesta es muy leve.

Una situación similar se encontró en la evaluación del peso seco de diez plántulas. El peso

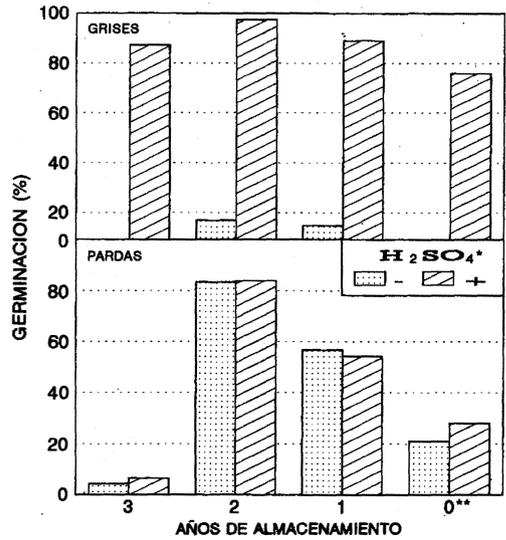


Fig. 1. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico sobre la germinación de las semillas de *S. emerus* con diferente edad y coloración de la cubierta.

\* Los signos + y - corresponden a tratamientos con y sin ácido sulfúrico.

\*\* En orden descendente, los años corresponden del año 1989 a 1992.

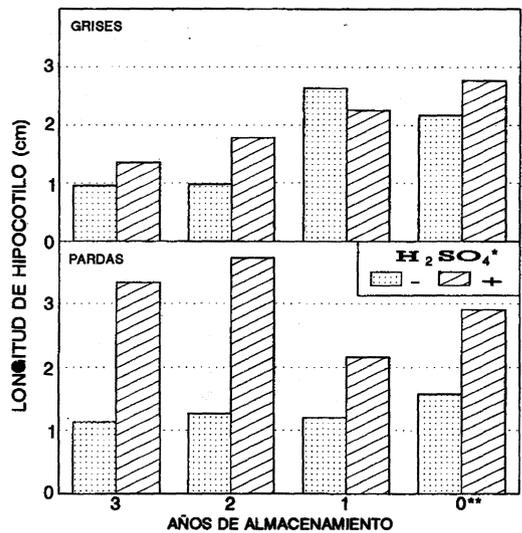


Fig. 2. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico sobre la longitud del hipocótilo de plántulas de *S. emerus* procedente de semillas con diferente edad y coloración de la cubierta.

\* Los signos + y - corresponden a tratamientos con y sin ácido sulfúrico.

\*\* En orden descendente, los años corresponden del año 1989 a 1992.

de las plántulas obtenidas de semillas tratadas con ácido (0.355 g) fue mayor ( $\alpha = 0.01$ ) que el de las no tratadas (0.184 g). La semilla almacenada por 3 años tuvo un peso significativamente menor ( $\alpha = 0.05$ ) que las almacenadas por 0 y 1 año (Cuadro 1). No hubo diferencias significativas entre las semillas almacenadas por 2 años y las almacenadas por períodos mayores o menores. También se detectó diferencias ( $\alpha = 0.05$ ) según el color de la cubierta de la semilla, teniendo un peso significativamente mayor las plántulas provenientes de semillas grises. La interacción entre la inmersión en  $H_2SO_4$  y el color de la cubierta fue significativa ( $\alpha = 0.01$ ), encontrándose que las semillas pardas responden aumentando proporcionalmente más el peso seco que las semillas grises al ser tratadas con  $H_2SO_4$  (Fig. 3). La interacción entre el color de la cubierta y el año de cosecha (Fig. 3) también fue significativa ( $\alpha = 0.05$ ), según lo cual en las plántulas provenientes de semillas grises el peso seco disminuye conforme aumenta la edad de la semilla, mientras que en las pardas se mantiene estático.

#### DISCUSION

Debido a que la aplicación de  $H_2SO_4$  a la cubierta de la semilla de *S. emerus* ocasionó la rápida germinación de la semilla de cubierta gris y un aumento significativo de la misma, se confirma que existe un fuerte reposo y que éste se encuentra ligado a impermeabilidad de la cubierta. Rojas y Herrera (1989) encontraron resultados similares en semillas de *Desmodium ovalifolium* inmersas en  $H_2SO_4$  por 6 min, lo que aumentó la germinación de 0 a 80%. El reposo impuesto por la cubierta ha sido encontrado en otras especies de Leguminosae como *Acassia melanoxyton*, *Albizia lophantha* y *Phaseolus lunatus* (Bewley y Black 1982). En muchos casos este reposo está impuesto únicamente por la impermeabilidad de la cubierta al paso de oxígeno o de agua y éste se elimina perforando la cubierta para que dichos intercambios ocurran. Este mecanismo es muy efectivo de manera que la germinación se ve retardada por muchos años. En *Robinia pseudoacacia* el 20% de la población puede permanecer en reposo al menos por 2 años y el 1.5% hasta por 14 años (Ballard 1973). Esto evita la germinación en épocas que no serían aptas para el establecimiento debido a factores climáticos

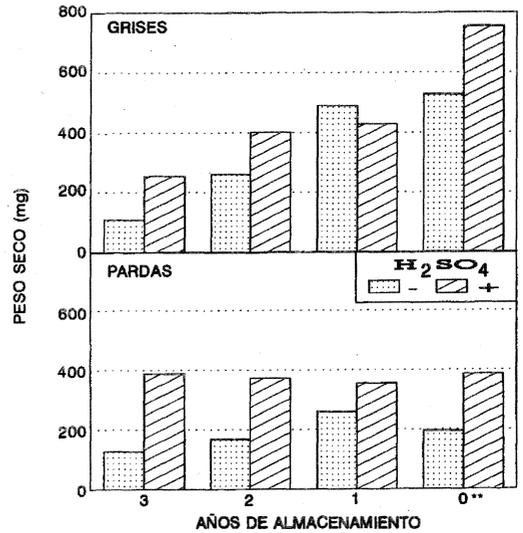


Fig. 3. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico sobre el peso seco de plántulas de *S. emerus* con diferente edad y coloración de la cubierta seminal.

\* Los signos + y - corresponden a tratamientos con y sin ácido sulfúrico.

\*\* En orden descendente, los años corresponden del año 1989 a 1992.

adversos, tales como temperaturas extremas o baja disponibilidad de agua, y permite la acción de los mecanismos dispersantes, tanto en el espacio como en el tiempo, asegurando la supervivencia de la especie.

Los resultados obtenidos con la semilla parda difieren de los anteriores, ya que la adición de  $H_2SO_4$  no estimuló la germinación. Sin embargo, a pesar de que inicialmente la semilla parda presenta una mejor germinación que la gris y que irá en aumento hasta el tercer año (83%), los valores iniciales alcanzaron únicamente el 21% (Fig. 1). Después de alcanzar este pico de germinación, se produce un brusco descenso en la semilla almacenada por 3 años. Es importante hacer notar que la mayoría de las semillas sin germinar, no mostraron señales de deterioro, por lo que se clasifican como semillas duras según la International Seed Testing Association (1984). Esto puede ser la manifestación de una adaptación fisiológica que ocasiona la aparición de un reposo secundario, el cual puede ser inducido por aspectos tales como bajos contenidos de humedad en la semilla o cambios en la temperatura, tal como lo mencionan Bewley y Black (1982) y Copeland (1976) en otras especies.

El hecho que la semilla parda tenga originalmente valores de germinación bajos, indica la presencia de reposo, sin embargo, se puede afirmar que éste no es ocasionado por la cubierta, como en el caso de las semillas grises, ya que el  $H_2SO_4$  no tuvo ningún efecto. Esto sugiere que el reposo es inducido por inhibidores químicos de la germinación, lo cual fue corroborado posteriormente por los autores por medio de su extracción química. La presencia de inhibidores no es garantía de que sean la causa del reposo, ya que como señala Wareing (1965), el embrión puede estar protegido de la acción del inhibidor, presente en otro tejido. Todo lo anterior hace que la respuesta de esta especie a las condiciones ambientales sea muy especializada, asegurando su supervivencia, sobre todo considerando que las semillas pardas y grises aparecen en una misma planta y frecuentemente ambas coloraciones en una misma vaina. Lo anterior se ha encontrado en otras especies como *Salicornia patula* (1985), *Heterotheca latifolia* (Venable 1985) y *Bidens pilosa* (Forsyth & Brown 1982), con lo que ecológicamente se protege la especie de cambios ambientales estacionales.

Los resultados obtenidos en la longitud del hipocótilo y el peso seco de las plántulas manifiestan un alto grado de similitud (Fig. 2 y 3). Ambas variables han sido utilizadas comúnmente para evaluar el vigor de la semilla, que es un criterio preciso del estado fisiológico, considerado en la mayoría de los casos de mayor importancia que la evaluación de la germinación, la cual se reduce más lentamente (Copeland 1976, Delouche 1976, International Seed Testing Association 1984). Como manifiesta Delouche (1976), el vigor está directamente relacionado con la capacidad de la semilla de germinar y lograr el establecimiento de una planta adulta, lo cual se vuelve primordial cuando las condiciones ambientales no son óptimas. En este experimento, el vigor de las semillas grises y por ende los valores de longitud y peso seco disminuyeron conforme aumentó la edad de la semilla (Cuadro 1). Resultados similares fueron encontrados por Barboza y Herrera (1990) y por Rodríguez y Leme (1985). La misma tendencia, aunque menos obvia, se observó en semillas pardas no tratadas con  $H_2SO_4$ ; sin embargo, las tratadas muestran un comportamiento atípico, ya que no hubo variaciones a través del tiempo. Lo

anterior parece indicar que hay inhibidores en la semilla, los cuales en muchos casos no sólo evitan la germinación, sino que retardan el desarrollo de las que logran germinar. Esta podría ser una de las causas de que en la mayoría de los casos (excepto en semillas grises con 1 año de almacenamiento) los valores de peso seco y longitud del hipocótilo, fueron mayores cuando se trataron con ácido. Es posible que el tratamiento y posterior lavado haya eliminado los inhibidores. Esto tiene importancia para la germinación de la semilla en el campo, ya que si los inhibidores se encuentran en la cubierta serán lavados por el agua de lluvia, liberando a la semilla de su influencia paulatinamente, con lo cual el mecanismo de dispersión escalonada se ve reforzado. Una segunda explicación sería que la cubierta de las semillas haya constituido una barrera física que retrasara el desarrollo de las plántulas.

Los resultados de peso seco de las plántulas parecen indicar que aunque las semillas pardas tienen una mayor germinación en agua (Fig. 1), alcanzan menor peso seco que las grises durante los dos primeros años de almacenamiento (Fig. 3). Esto es un indicio de que las semillas pardas necesitan un tiempo mayor para su establecimiento como ente autotrófico, por lo que bajo condiciones no ideales, las grises probablemente tendrán una mayor posibilidad de supervivencia.

Las respuestas de las semillas con distintas coloraciones de la cubierta, coincide con los criterios de muchos autores (Thompson 1981, Ungar 1987, Winn 1988) quienes manifiestan que el dimorfismo en semillas refleja diferencias en su comportamiento de germinación, como respuesta a una extensión de los períodos de germinación sobre una escala temporal y espacial (Berger 1985, Tanowitz *et al.* 1987). Esto permite a las plantas poseer períodos de germinación prolongados y tener así la oportunidad de establecer varias cohortes. Las semillas pardas podrían ser el recurso de una germinación temprana rápida, cuando caen las primeras lluvias y las grises formar el banco de semillas que estará disponible para germinar en años posteriores. Al respecto, Venable *et al.* (1987) indican que germinaciones tempranas poseen alta mortalidad, plantas de mayor tamaño y más semillas, al compararse con las tardías.

## AGRADECIMIENTOS

J. Herrera es miembro del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

## RESUMEN

Se cosecharon semillas de *Sesbania emerus* anualmente entre los años 1989 y 1992 y se almacenaron a 21°C hasta 1992 cuando este experimento se llevó a cabo. Las semillas se separaron de acuerdo con el color de su cubierta, en semillas pardas y grises y se sumergieron ácido sulfúrico por 20 min para interrumpir el reposo. Las grises aumentaron significativamente su germinación cuando fueron tratadas. No se detectó respuesta en las semillas pardas. El peso seco de las plántulas y la longitud probaron ser buenos indicadores del vigor de la semilla, excepto en las semillas pardas en las cuales no se encontraron valores decrecientes conforme se produce el envejecimiento.

## REFERENCIAS

- Abrahamson G. & H. Caswell. 1982. On the comparative allocation of biomass, energy and nutrients in plants. *Ecology* 63: 982-991.
- Anónimo. 1984. Traducción del Manual de ensayos de vigor de la International Seed Testing Association. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero, Madrid. 56 p.
- Amen R.D. 1968. A model of seed dormancy. *Bot. Rev.* 34:1-31.
- Atwater, B.R. 1980. Germination, dormancy and morphology of the seed of herbaceous ornamental plants. *Seed Sc. Tech.* 8: 523-573.
- Ballard, L.T.A. 1973. Physical barriers to germination. *Seed Sc. Tech.* 1: 285-303.
- Barboza R. & J. Herrera. 1990. El vigor de la semilla de café y su relación con la temperatura de secado, el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento. *Agronomía Costarricense* 14: 1-8.
- Berger, A. 1985. Seed dimorphism and germination behaviour in *Salicornia patula*. *Vegetatio* 61: 137-143.
- Bewley, J.D. & M. Black. 1982. Physiology and biochemistry of seeds. Viability, dormancy and environmental control, vol. 2. Springer-Verlag. Berlín. 375 p.
- Copeland, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Minneapolis, Minesota. 369 p.
- Delouche, J.C. 1976. Standardization of vigor tests. *J. Seed Tech.* 1 75-85.
- Forsyth, C. & N.A.C. Brown. 1982. Germination of the dimorphic fruits of *Bidens pilosa* L. *New Phytol.* 90: 131-164.
- Gaspar, S., J. Fasekas & A. Petho. 1975. Effects of gibberellic acid and prechilling on breaking dormancy in cereals. *Seed Sc. Tech.* 5: 353-425.
- Quinlivan, B.J. 1971. Seed coat impermeability in legumes. *J. Australian Inst. Agr. Sc.* 37: 283-295.
- Rarivorson, C. 1987. Scarifying seeds of green manure legumes. *Int. Rice Res. Newsl.* 12: 47.
- Rodríguez, W. & M.C. Leme. 1985. Interferencia de teor de umidade das sementes de café na manutenção de sua qualidade fisiológica. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 20: 545-550.
- Rojas, S. & J. Herrera. 1989. Efecto de tratamientos físicos y químicos sobre el reposo de semillas de *Desmodium ovalifolium*. *Agronomía Costarricense* 13: 11-15.
- Sheelavantar, R.S., R.S. Bhat & P.S. Mattiwade. 1989. Effect of boiling water treatment on germination and growth of *Sesbania rostrata*. *Int. Rice Res. Newsl.* 12: 13.
- Tanowitz, B.D., P.F. Salopek & B.E. Mahall. 1987. Differential germination of ray and disc achenes in *Hemizonia increscens* (Asteraceae). *Am. J. Bot.* 73: 303-312.
- Thompson K. & A.J. Stewart. 1981. The measurement and meaning of reproductive effort in plants. *Amer. Nat.* 117: 105-211.
- Ungar, I.A. 1978. Morphotype seed germination. *Bot. Rev.* 44 : 233-264.
- Venable, D.L., A. Búrquez, G. Corral, E. Morales & F. Espinosa. 1987. The ecology of seed heteromorphism in *Heterosperma pinnatum* in central Mexico. *Ecology* 68: 65-76.
- Venable, D.L. & D.A. Levin. 1985. Ecology of achene dimorphism in *Heterotheca latifolia*. I. Achene structure, germination and dispersal. *J. Ecol.* 73: 133-145.
- Venable, D.L. & D.A. Levin. 1985. Ecology of achene dimorphism in *Heterotheca latifolia*. III. Consequences of varied water availability. *J. Ecol.* 73: 757-763.
- Villiers, T.A. 1972. Seed dormancy, p. 220-282 *In* T.T. Kozlowski (ed.). *Seed Biology, Germination Control, Metabolism and Pathology*. Academic, Nueva York.
- Wareing, P.F. 1965. Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy, p. 909-924. *In* W. Ruhland (ed.). *Encyclopedia of Plant Physiology*, vol. 15/2. Springer-Verlag, Berlín.